

SYNTHESE
UND BIOLOGISCHE AKTIVITÄT
NEUER OXAPENEME

Bernhard Kammermeier

Disbui. München

1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555209_0012

SYNTHESE UND BIOLOGISCHE AKTIVITÄT NEUER OXAPENEME

Dissertation
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Bernhard Kammermeier
aus Landshut

1988

1. Berichterstatter : Prof. Dr. H.R. Pfaendler

2. Berichterstatter : Prof. Dr. R. Gompper

Tag der mündlichen Prüfung : 22. 06. 1988

Die vorliegende Arbeit wurde auf Vorschlag und unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. H. R. Pfaendler
am Institut für Organische Chemie der Universität München
im Zeitraum von Dezember 1984 bis Mai 1988 durchgeführt.

Meinem verehrten Doktorvater gilt mein herzlicher Dank für die Themenstellung, für wertvolle Anregungen und Ratschläge und für sein stetes Interesse am Fortgang und den Ergebnissen dieser Arbeit.

Ferner danke ich Herrn H. Huber für seine unermüdliche Hilfsbereitschaft und den Mitarbeiterinnen des physikalischen Labors für die rasche und zuverlässige Anfertigung der Spektren. Mein aufrichtiger Dank gilt desweiteren Frau M. Schwarz und Herrn H. Schulz für die Anfertigung der Elementaranalysen.

Außerdem möchte ich mich bei Fräulein S. Klar für die Durchführung der bakteriologischen Tests und bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises für die mir entgegengebrachte Hilfsbereitschaft und die aufmunternden Diskussionen bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
1.1. Historische Entwicklung der β -Lactam-Antibiotika	1
1.2. Wirtschaftliche Bedeutung der β -Lactam-Antibio- tika	4
1.3. Die biologische Aktivität von β -Lactam-Antibio- tika	4
1.3.1. Der Aufbau der Bakterienzellwand	5
1.3.2. Der Wirkungsmechanismus während der Peptidogly- can - Biosynthese	8
1.3.3. Bakterielle Resistenz	11
2. <u>Oxazolinannelierte β-Lactam-Bicyclen</u>	13
2.1. Die Clavulansäure, der erste hochpotente β -Lac- tamase-Inhibitor	13
2.2. Chemische Reaktivität der Oxapeneme	16
2.3. Einfluß des Substitutionsmusters auf die Stabi- lität der Oxapeneme	19
2.3.1. Substituenteneinflüsse bei Penemen und Carbape- nemen	21
2.3.2. Erste systematische Stabilitätsuntersuchungen an Oxapenemen	24

2.4.	Literaturbekannte Synthesewege zur Oxapenemdarstellung	26
3.	<u>Die Synthese neuer 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäureester und -salze</u>	29
3.1.	Das Natriumsalz der 6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure als erste Endstufe ...	30
3.2.	Synthese des Natriumsalzes der 6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure	37
3.3.	Die Einführung einer zweiten Carboxylgruppe	38
3.4.	Vergleich der Halbwertszeiten und antibakteriellen Aktivitäten	41
4.	<u>Die Synthese der 6,6-unsubstituierten Analoga ..</u>	44
4.1.	Darstellung des Natriumsalzes der 3-[(1-Methyl-1-(2-thienyl))]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure	45
4.2.	Das Natriumsalz der 3-[(1-Methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure	48
4.3.	Ein Syntheserversuch	49

4.4.	Darstellung eines 3-[(1-methyl-1-(3-pyridyl))-ethyl]substituierten Oxapenemcarbonsäuresalzes	50
4.5.	Diskussion der Meßergebnisse der 6,6-unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze	54
5.	<u>Monocyclische β-Lactam-Antibiotika</u>	58
5.1.	Nocardicine und Monobactame	59
5.2.	Das Kaliumsalz der 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure	62
5.3.	Die biologischen Aktivitäten der 3-unsubstituierten Azetidinionsulfonsäuresalze <u>74</u> und <u>75</u> ...	64
5.4.	Das 3-hydroxymethylierte 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäuresalz	65
5.5.	Antibakterieller Test des 3-hydroxymethylierten Azetidinonsulfonsäuresalzes <u>80</u>	68
6.	<u>Abschließende Bemerkungen</u>	70

Experimenteller Teil

7.	<u>Allgemeines</u>	72
7.1.	Physikalische Meßgeräte	72

	Seite
7.2. Lösungsmittel	74
7.3. Herkunft der eingesetzten Chemikalien	74
7.4. Präparative Methodik	74
7.5. Chromatographische Verfahren	75
7.6. Kinetische Messungen	75
7.7. Bakterielle Tests	76
7.7.1. Verwendete Materialien	76
7.7.2. Durchführung der bakteriellen Tests	77
8. <u>Synthesen wichtiger Ausgangsmaterialien</u>	78
8.1. Bromessigsäure-p-nitrobenzylester	78
8.2. Diazomethan	80
8.3. Essigsäureisobutenylester (36)	80
9. <u>Synthesen 3-substituierter 6,6-Dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester und -salze</u>	82
9.1. 4-Acetoxy-3,3-dimethylazetidin-2-on (38)	82
9.2. 4-t-Butylthio-3,3-dimethylazetidin-2-on (39) ...	84
9.3. (4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-azetidinyl)essigsäure-p-nitrobenzylester (40)	85
9.4. 2-Methyl-2-phenylpropionsäureethylester (32 b) .	87
9.5. 2-Methyl-2-phenylpropionsäure (33 b)	89

9.6.	2-Methyl-2-phenylpropionsäurechlorid (34 b)	90
9.7.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny- yl)-4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitro- benzylester (41 b)	91
9.8.	2-(4-Chloro-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-4- methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitrobenzyl- ester (42 b)	93
9.9.	6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo- 4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäu- re-p-nitrobenzylester (43 b)	94
9.10.	6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo- 4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäu- re, Na-salz (44 b)	95
9.11.	Thiophenessigsäuremethylester (31 a)	97
9.12.	2-Methyl-2-(2-thienyl)propionsäuremethylester (32 a)	98
9.13.	2-Methyl-2-(2-thienyl)propionsäure (33 a)	99
9.14.	2-Methyl-2-(2-thienyl)propionsäurechlorid (34 a)	100
9.15.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny- yl)-4-methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p- nitrobenzylester (41 a)	102
9.16.	2-(4-Chloro-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-4- methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p-nitro- benzylester (42 a)	103
9.17.	6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-	



	7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (43 a)	105
9.18.	6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-(2-thienyl)ethyl)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-salz (44 a)	106
9.19.	Dimethylmalonsäuremonoethylester (46)	108
9.20.	Dimethylmalonsäuremonoethylestersäurechlorid (47)	109
9.21.	4-(t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-2,2-dimethyl-3-oxopentan-1,5-disäure-1-ethylester-5-p-nitrobenzylester (48)	110
9.22.	4-(Chloro-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-2,2-dimethyl-3-oxopenten-1,5-disäure-1-ethylester-5-p-nitrobenzylester (49)	112
9.23.	6,6-Dimethyl-3-[(1-ethoxycarbonyl-1-methyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (50)	113
9.24.	6,6-Dimethyl-3-[(1-ethoxycarbonyl-1-methyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-salz (51)	114

10.	<u>Synthesen der Natriumsalze 3-substituierter 7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäuren</u>	116
10.1.	4-Methylthioazetidin-2-on (52)	116
10.2.	(4-Methylthio-2-oxo-1-azetidiny)essigsäure-p-nitrobenzylester (53)	117
10.3.	2-(4-Methylthio-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitrobenzylester (54 b)	119
10.4.	2-(4-Chloro-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitrobenzylester (55 b) ..	121
10.5.	3-[(1-Methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (56 b)	122
10.6.	3-[(1-Methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-salz (57 b)	124
10.7.	2-(4-Methylthio-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (54 a)	125
10.8.	2-(4-Chloro-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (55 a)	126
10.9.	3-[(1-Methyl-1-(2-thienyl)ethyl)-7-oxo-4-oxa-	

	1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (56 a)	128
10.10.	3-[(1-Methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-salz (57 a)	129
10.11.	2-Methyl-2-(3-pyridyl)propionsäureethylester (59)	130
10.12.	2-Methyl-2-(3-pyridyl)propionsäure, K-salz (60)	132
10.13.	2-Methyl-2-(3-pyridyl)propionsäurechlorid (61)	133
10.14.	4-t-Butylthioazetidin-2-on (62)	134
10.15.	(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidiny)essigsäure-p-nitrobenzylester (63)	136
10.16.	2-(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-(3-pyridyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (64)	137
10.17.	2-(4-Chloro-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-(3-pyridyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (65)	139
10.18.	3-[(1-Methyl-1-(3-pyridyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (66)	140
10.19.	3-[(1-Methyl-1-(3-pyridyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-salz (67)	141

11.	<u>Synthesen der Kaliumsalze 4-methylsulfonylsubstituierter Azetidin-2-on-N-sulfonsäuren</u>	143
11.1.	4-Methylsulfonylazetidin-2-on (73)	143
11.2.	4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure, Pyridiniumsalz (74)	145
11.3.	4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure, K-salz (75)	146
11.4.	4-Hydroxyethylsulfonyl-3-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxymethyl)azetidin-2-on (77)	147
11.5.	4-Methylthio-3-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxymethyl)azetidin-2-on (78)	149
11.6.	4-Methylsulfonyl-3-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxymethyl)azetidin-2-on (79)	150
11.7.	3-Hydroxymethyl-4-methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure, K-salz (80)	152
12.	<u>Strukturverzeichnis der dargestellten Verbindungen und ihre Zuordnung im experimentellen Teil</u> .	154
13.	<u>Zusammenfassung</u>	161
14.	<u>Literaturverzeichnis</u>	166

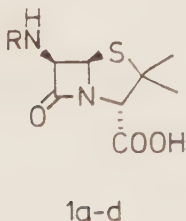
Verwendete Abkürzungen :

Ac	Acetyl
Ar	Aromat
Bu	Butyl
d	deutერიert
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Et	Ethyl
mCPBA	meta-Chlorperbenzoesäure
p	para
pNbz	para-Nitrobenzyl
Py	Pyridin
t	tertiär
THF	Tetrahydrofuran

1. Einleitung

1.1. Historische Entwicklung der β -Lactam-Antibiotika

Seit etwa 1870 waren die wachstumshemmenden Eigenschaften von Pilzen der Gattung *Penicillium* bekannt, aber erst mit A. Flemings historischer Beobachtung, der Wirksamkeit von "*Penicillium notatum*", zuerst gegen *Staphylokokken*, dann auch gegen *Streptokokken* und *Pneumokokken*, konzentrierten sich die Biologen auf die Stoffwechselprodukte dieser Pilzgattung¹⁻⁴. 1938 begannen Florey und Chain in Oxford, die von Mikroorganismen erzeugten antibakteriellen Wirkstoffe zu untersuchen und fanden darunter Penicillin F (von Fleming als Penicillin bezeichnet), das aber nur gegen grampositive⁵ Keime wirksam war².

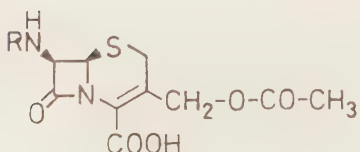


- a) R = $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
Penicillin F (1938)
- b) R = $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{Phenyl}$
Penicillin G (1941)
- c) R = $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Phenyl}$
Penicillin V (1954)
- d) R = H
6-APA (1959)

1941 konnten Abraham und Chain erstmals in klinischen Tests nachweisen, daß isoliertes Penicillin F bakterielle Infektionen zu heilen vermochte² (Diese Forschungsarbeiten

wurden während des 2. Weltkriegs großzügig durch die englische und amerikanische Regierung unterstützt.). Gleichfalls 1941 wurde in den USA Penicillin G durch Phenylelessigsäure-zusatz im Kulturmedium hergestellt. Der 1943 aufgestellte Strukturvorschlag für Penicillin F konnte 1945 durch eine Röntgenstrukturanalyse von Hodgkin und Low² endgültig bestätigt werden.

Noch im gleichen Jahr fand Brotzu in den Abwässern der südsardischen Stadt Cagliari den antibiotikaproduzierenden Stamm "Cephalosporium acremonium" und entdeckte das auch gegen penicillinresistente Keime wirksame Cephalosporin C. 1953 wurde es von Abraham und Newton⁶ isoliert. Beide Forscher konnten in der Folge sowohl die Penicillinase-Stabilität nachweisen, als auch die Struktur von Cephalosporin C^{7,8} aufklären und 1959 zusammen mit Loder⁹ den Grundkörper, die 7-Aminocephalosporansäure (7-ACA) in geringer Ausbeute isolieren.



- a) R = -CO-(CH₂)₃-CH(NH₂)COOH
Cephalosporin C (1945)
b) R = H
7-ACA (1959)

2a-b

Morin¹⁰ konnte 7-ACA 1962 bereits in großen Mengen herstellen und Woodward¹¹ führte 1966 die erste Totalsynthese von Cephalosporin C durch.

Auch auf dem 'Penicillinsektor' war die Entwicklung

nach 1945 stürmisch weiterverlaufen. 1954 wurde mit Penicillin V das erste oral applizierbare Penicillin entwickelt. Sheehan¹² gelang 1958 die erste Totalsynthese des Penicillin F und Rolinson¹³ konnte 1959 den Penicillingrundkörper, die 6-Aminopenicillansäure (6-APA) isolieren, worauf intensive Forschungsarbeiten zur Darstellung semi-synthetischer Penicilline, ausgehend von 6-APA folgten.

1962 zeigten Miller, Stapley und Chaiet¹⁴, daß auch die zu den fädigen Bakterien zählenden Actinomyceten β -Lactame produzierten. Nagarajan¹⁵ isolierte 1971 das erste natürliche 7-Methoxycephalosporin, Cephamycin A, gleichfalls aus Actinomyceten. Cama und Christensen¹⁶ gelang 1974 die erste halbsynthetische Darstellung eines 1-Oxacephalosporins. Am Woodward Forschungsinstitut wurde 1975 der erste noch instabile Vertreter der in der Natur bisher nicht gefundenen Peneme synthetisiert¹⁷, während Aoki und Sakai¹⁸ noch im gleichen Jahr die ersten monocyclischen β -Lactame aus der Gruppe der Nocardicine fanden. Kahan und Kahan¹⁹ isolierten Thienamycin als ersten Vertreter der Carbapeneme aus Fermentationsprodukten von "Streptomyces cattleya". 1981 wurden schließlich die Monobactame, weitere wichtige monocyclische β -Lactame, erstmals aus Bakterienstämmen isoliert und beschrieben²⁰. Seither schreitet die Entwicklung neuer halb- und totalsynthetischer Derivate stetig weiter. Die β -Lactam-Antibiotika zählen noch immer zu den wichtigsten Medikamenten in der Behandlung von bakteriellen Infektionskrankheiten.

1.2. Wirtschaftliche Bedeutung der β -Lactam-Antibiotika³

1978 wurden weltweit etwa 24 Milliarden DM für Antibiotika ausgegeben, wobei β -Lactame mit einem Anteil von 60% vertreten sind. Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes in Wiesbaden beliefen sich die Produktionszahlen in der Bundesrepublik für Kombinationspräparate aus Penicillinen und Streptomycinen im Jahr 1980 auf 260 Millionen DM, für andere Antibiotika auf 168 Millionen DM. Der Verkaufswert beider Posten lag im gleichen Zeitraum mit 563 Millionen DM an zweiter Stelle hinter human- und veterinärmedizinischen Spezialitäten.

1.3. Die biologische Aktivität von β -Lactam-Antibiotika³

Verschiedene antiinfektiöse Chemotherapeutika blockieren die Lebensprozesse von Bakterien an ganz unterschiedlichen Stellen. Während Bleomycine und Anthracycline die Replikation der DNA unterbinden, verhindern Rifamycine die Transkription der DNA in m-RNA. Tetracycline, Chloramphenicol und andere greifen in den Übersetzungsprozeß der m-RNA an den Ribosomen ein. Die β -Lactam-Antibiotika dagegen hemmen die Synthese der bakteriellen Zellwand und zählen damit zu den degenerativ-bakteriziden Antibiotika, die nur proliferierende Keime mit aktivem Stoffwechsel abtöten können. Die geringfügigen Unterschiede in den Stoffwechsel-

vorgängen zwischen Bakterien und Säugerzellen genügen, damit Antibiotika für erstere giftig für den Menschen dagegen harmlos sind.

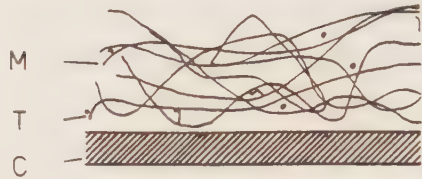
1.3.1. Der Aufbau der Bakterienzellwand²¹⁻²⁵

Die Bakterienzellwand besitzt eine Reihe wichtiger Eigenschaften, die eine entscheidende Rolle für das Überleben dieser Mikroorganismen spielen. Durch ihre mechanische Stabilität schützt die Bakterienzellwand die innenliegende Cytoplasmamembran vor dem hohen innerzellulären osmotischen Druck und wirkt nach außen als physikalische Barriere gegen das Eindringen schädlicher Fremdsubstanzen. In der Zellwand lokalisierte Antigene, wie Teichon- und Teichuronsäuren puffern den Elektrolytgehalt der Zelle, Zellwandenzyme beeinflussen Wachstum und Zellteilung. Die genaue Zusammensetzung der Bakterienzellwand dient als Unterscheidungskriterium bei der Einteilung in gramnegative und grampositive Bakterien⁵.

Neben der Cytoplasmamembran, die bei beiden Spezies die innerste Membran bildet, bestehen grampositive Keime zu etwa 50% der Trockenmasse aus einer dreidimensionalen Peptidoglykanschicht, dem Mureinsacculus, der das Bakterium ringförmig mit Heteropolymeren umschließt, die untereinander durch Oligopeptide quervernetzt sind. Das Mureinnetz ist bei grampositiven Bakterien bis zu 40 Schichten dick

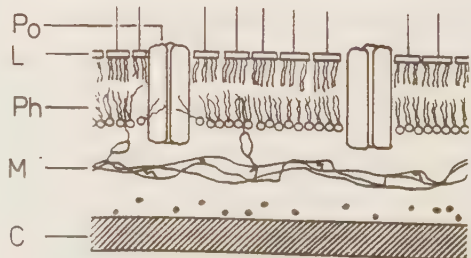
und leistet einen wesentlichen Beitrag zur mechanischen Stabilität (Abb. 1).

Abb. 1: Modell der Zellwand grampositiver Bakterien;
M: Murein; C: Cytoplasmamembran; T: Teichon- und Teichuronsäuren;

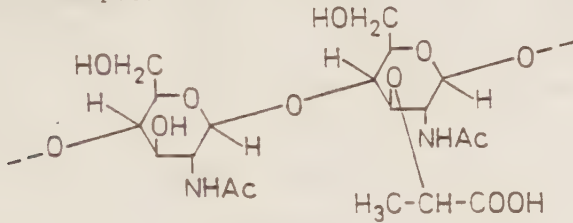


Dieses Aufbauprinzip bleibt bei gramnegativen Bakterien erhalten, nur ist ihr Mureinnetz einschichtig und der Mureingehalt beträgt nur 10% der Trockenmasse der Zellwand. Zusätzlich verfügen gramnegative Bakterien über eine von der Mureinschicht abgesetzte äußere Membran aus Lipoproteinen, Lipopolysacchariden und anderen Lipiden mit schwankendem Proteinanteil (Die Lipopolysaccharide zählen zu den wirksamsten Endotoxinen der Bakterien und verursachen u.a. Fieber, Diarrhoe und Darmruhr.). Neben der rein mechanischen kommen der äußeren Membran auch physiologische Funktionen zu, da in sie Transmembranproteine (Porine) eingebettet sind, die den Transport niedermolekularer hydrophiler Substanzen durch die lipophile Membran gewährleisten sollen (Abb. 2).

Abb. 2: Modell der Zellwand gramnegativer Bakterien;
M: Murein; C: Cytoplasmamembran; Ph: Phospholipide; Po: Porine; L: Lipopolysaccharide;



Die kettenförmigen Hauptstränge des makromolekularen Peptidoglykans sind aus N-Acetylglucosamin (NAG) und dessen Milchsäureether, N-Acetylmuraminsäure (NAM) aufgebaut. NAM und NAG sind dabei in alternierender Folge β -1,4-glycosidisch verknüpft.



Die Glycosaminketten mit einer von 10 bis über 200 Disaccharideinheiten variierenden Länge sind unverzweigt und bilden das Rückgrat des Peptidoglykans. Die Muraminsäureglieder sind über ihre Lactylgruppe peptidisch mit Aminosäuren (u.a.: D- und L-Alanin, Glycin, D-Glutaminsäure und L-Lysin) verknüpft, die wiederum untereinander vernetzt sind, und auf diese Weise die heteropolymeren Ketten miteinander verbinden. Die beteiligten Aminosäuren wechseln dabei von Spezies zu Spezies und können auch Interpeptidketten (z.b. Pentaglycinketten) zur Tetrapeptidseitenkettenverknüpfung der Muraminsäure bilden, wie z.b. *Staphylococcus aureus* (Abb. 3).

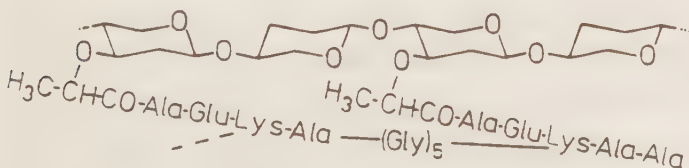


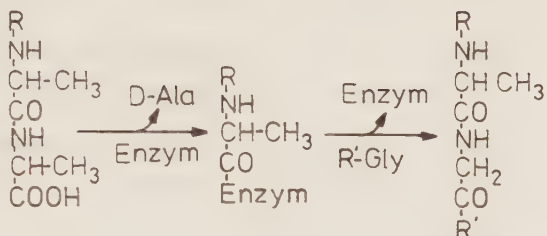
Abb. 3: Bezüglich des Polysaccharidstrangs leicht vereinfachter Ausschnitt aus der Mureinstruktur von *Staphylococcus aureus*

1.3.2. Der Wirkungsmechanismus der β -Lactam-Antibiotika
während der Peptidoglykan-Biosynthese^{1,2,23,24}

Die Biosynthese des Peptidoglykans gliedert sich in drei Abschnitte. Im ersten Syntheseschritt wird das Muraminsäurepentapeptid unter der Einwirkung von Enzymen im Cytoplasma aus NAG-1-phosphat gebildet. Während dieser Vorgänge bleibt das wachsende Molekül an Uridindiphosphat (UDP) als Träger gebunden. Die Reaktionen im zweiten Abschnitt finden an der Cytoplasmamembran statt. Dazu ist zunächst der Trägeraustausch von UDP gegen ein C_{55} -Polyisoprenoid, das Undecaprenylphosphat (UDPPH) erforderlich, der dem vorher hydrophilen Molekül den nötigen lipophilen Charakter verleiht. Anschließend erfolgt die Verknüpfung des Muraminsäurepentapeptids mit NAG und die Angliederung der fünf Glycylreste an die Peptidkette. Dank des lipophilen Charakters ist der nun folgende Transport des Moleküls samt Träger durch die Cytoplasmamembran in den periplasmatischen Raum möglich. Hier findet im dritten Abschnitt die Synthese zum Peptidoglykangerüst und die Quervernetzung der Oligopeptide durch Transpeptidasen statt. Die peptidkettenendständige Bindung zwischen den beiden D-Alanylresten wird unter Abspaltung eines Moleküls D-Alanin, sowie des Trägermoleküls UDPPH gelöst und der Peptidoglykanrest durch eine Carboxypeptidase mit einem weiteren Oligopeptid verknüpft. Die Bindungsknüpfungen zum stabilen, dreidimensionalen Netzwerks werden schließlich alle durch cytoplasma-

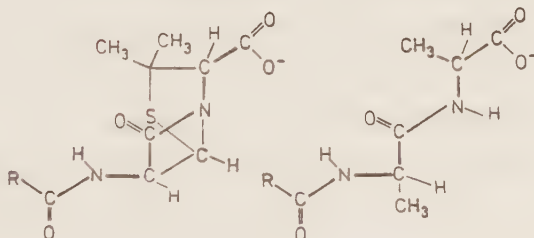
membrangebundenen Transpeptidasen katalysiert (Abb. 4).

Abb. 4: Enzym-
katalysierte
Vernetzungsre-
aktion zum Mu-
reinsacculus



In diesem letzten Syntheseschritt werden der Transpeptidase nun die gemeinsamen Strukturmerkmale von Antibiotikum und Alanylalaninende des Glykopeptidstrangs zum Verhängnis (Abb. 5).

Abb. 5: Struk-
turanalogie zwi-
schen Penicil-
linen (links)
und D-Alanyl-
D-Alanin



Das Enzym "verwechselt" β -Lactam und Oligopeptidende und bindet ersteres zunächst reversibel an seine aktiven Stellen. Darauf folgt ein irreversibler Acylierungsschritt, der von der Natur des β -Lactams (Penicillin, Cephalosporin,...) und seiner Substituenten abhängig ist und der das

Enzym desaktiviert; im Gegensatz zum kompetitiven Antagonismus zwischen Sulfonamiden und p-Aminobenzoessäure liegt hier eine irreversible Hemmung vor. Ermöglicht wird die Acylierung durch die hohe Ringspannung im Penicillin, bzw durch die elektronische Aktivierung des Cephalosporinrings durch die Doppelbindung des annelierten Dihydrothiazinrings. Geeignete Substituenten am β -Lactamring können durch weitere Bindungsstellen am Enzym induzierend wirken. Die Inhibierung der Enzyme führt zu deutlich dünneren Zellwänden und verursacht damit eine osmotische Lyse der Zelle. Neuere Arbeiten haben gezeigt, daß auch bestimmte penicillinbindende Proteine (PBPs) geschädigt werden, die Aufgaben der Zellstreckung, Zellteilung und Zellformgestaltung wahrnehmen. Außerdem kann das Gleichgewichts zwischen autolytischen Enzymen (Peptidoglykanhydrolasen) und synthetischen Enzymen gestört werden. Bei penicillintoleranten Staphylokokken dagegen wird nur die Zellteilung der Bakterien unterbunden, die vorhandenen Keime jedoch mangels ausreichendem autolytischem Enzymsystem nicht abgetötet. Bei grampositiven Keimen bewirken β -Lactam-Antibiotika neben morphologischen Veränderungen (Riesenzellen) auch eine Konzentrationserhöhung an Teichonsäuren und Phospholipiden, die das autolytische System "anschalten".

Fehlende Stützstrukturen (Murein) in Säugerzellen prädestinieren β -Lactam-Antibiotika mit ihrer selektiven Bakterientoxizität für die antiinfektiöse Chemotherapie.

1.3.3. Bakterielle Resistenz gegen β -Lactam-Antibiotika ²⁵⁻³⁶

Bakterielle Resistenz hat im wesentlichen zwei Gründe. Zum einen kann das Antibiotikum bereits vor Erreichen des Zielorts an einer Permeabilitätsschwelle scheitern, was vorwiegend bei gramnegativen Keimen mit ihrer zusätzlichen Lipidmembran ein Problem darstellt. Trotz vorhandener Poreine wird die Diffusionsrate der Antibiotikamolekel vom Anteil offener Poren limitiert. Bei grampositiven Keimen dient die Zellwand nur als Molekularsieb gegenüber hochmolekularen Verbindungen. Kleine Moleküle, wie die β -Lactame können sie ohne weiteres passieren.

Ein zweiter und weit problematischerer Faktor sind spezielle β -Lactamasen, die als Abwehrantwort der Zelle die β -Lactame zu antibiotisch unwirksamen Produkten hydrolysieren. Sie sind entwicklungsgeschichtlich wahrscheinlich mit den PBPs verwandt und wurden in den meisten Bakterien gefunden. β -Lactamasen entstehen durch spezielle Gene, die chromosomal oder extrachromosomal in den Bakterien auftreten. Die extrachromosomalen, sich unabhängig vermehrenden Gene sind ringförmig und werden als Plasmide bezeichnet. Sie können bis zu acht verschiedene Resistenzen kodieren und werden zwischen den Bakterien konjugativ ausgetauscht. Transduktion und Transformation sind weitere Möglichkeiten um Informationen für Resistenzen weiterzugeben. Die Mehrzahl der von grampositiven Organismen produzierten β -Lactamasen liegt exocellulär vor und benötigt zur Kon-

zentrationsteigerung eine Induktion. Von gramnegativen Keimen erzeugte β -Lactamasen können sowohl induzierbar sein, als auch ständig in höherer Konzentration vorliegen. Gewöhnlich sind diese Hydrolasen strategisch sehr günstig im periplasmatischen Raum lokalisiert. Bei Staphylokokken tritt z.B. eine Resistenz auf, die allein auf das Vorhandensein von β -Lactamasen zurückzuführen ist.

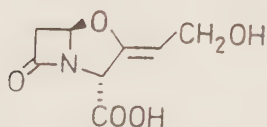
Nachdem 1948 bereits 50% und 1955 etwa 80% der unter dem starken Selektionsdruck der neuen Bakterizide stehenden Staphylokokken gegen Penicillin resistent waren, wurde mit Cephalosporin C das erste β -lactamasestabile Antibiotikum entdeckt. Gleichzeitig begann die Suche nach β -Lactamasehemmern, die nach Winkelried'schem Vorbild das Heer der Abwehrenzyme blockieren und irreversibel hemmen sollten, um so dem eigentlich wirksamen Antibiotikum Zutritt zu den Transpeptidasen zu verschaffen. 1976 entdeckten Howarth, Brown und King³⁷ schließlich den ersten β -Lactamasehemmer, die Clavulansäure in "Streptomyces clavuligerus", knapp gefolgt von English und Retsma³⁸, die 1978 das Sulbactam, einen partialsynthetisch gewonnenen Vertreter dieser Wirkungsklasse fanden.

2. Oxazolinannelierte β -Lactam-Bicyclen

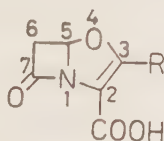
2.1. Die Clavulansäure, der erste hochpotente

β -Lactamase-Inhibitor^{4,39,40}

Aus dem früher angesprochenen Wirkungsmechanismus für β -Lactamantibiotika leiten sich drei Forderungen an diese Wirkstoffe ab. Erstens müssen sie die äußeren Zellwandschichten durchdringen können. Zweitens sollte die Verbindung stabil gegen desaktivierende Enzyme sein. Drittens muß eine hohe Affinität zu den für das Bakterienzellwachstum essentiellen Zielenzymen (PBPs) gegeben sein. Diese drei Grundeigenschaften lassen sich durch geeignete Versuchsbedingungen getrennt abschätzen und führen zur gewünschten antibakteriellen Wirksamkeit. Insbesondere das zweite Kriterium war wegen des Auftretens spezieller Hydrolasen die schließlich zur Antibiotikaresistenz führen, schwierig in den Griff zu bekommen. Die Entdeckung der Clavulansäure (3a), des ersten natürlich auftretenden oxazolidinanellierten β -Lactam-Bicyclus war der entscheidende Lösungsansatz.



3a



3b

Clavulansäure inhibiert ein breites Spektrum an β -Lactamasen von klinischer Bedeutung und erhöht dadurch signifikant die Aktivität von Penicillinen und Cephalosporinen gegen β -lactamaseproduzierende Keime. Wie Sulbactam (S-Dioxopenicillansäure, 71) verfügt Clavulansäure nur über eine geringe antibakterielle Wirksamkeit, wird aber bei oraler Applikation in ausreichendem Maße resorbiert und macht daher keine zusätzliche Prodrug-Modifikation erforderlich. Neben dem vergleichsweise geringen Synergismus von Sulbactam in Kombination mit β -Lactam-Antibiotika wie Penicillin G, Piperacillin oder Ampicillin erhöhen geringe Dosen von Clavulansäure die antibakterielle Aktivität der wirksamen Komponente gegenüber Keimen wie *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* etc.. Die Aktivität gegen Cephalosporinasen ist dagegen gering.

Wichtig für die inhibierende Wirkung ist besonders die ungesättigte Seitenkette. Nach dem anfänglichen Acylierungsschritt im aktiven Zentrum kann die Clavulansäure weitere Reaktionen an anderer Stelle mit dem Enzym eingehen. Unter den beschriebenen Clavulansäureanaloga zeigten nur seitenkettenmodifizierte Strukturen mit endo- oder exoständiger Doppelbindung an 2-Position des sauerstofftragenden Rings die gewünschte Hemmwirkung⁴¹. Bentley⁴² et al. berichteten 1980 über Synthese und Struktur-Wirkungsbeziehungen racemischer Clavulansäure (Totalsynthese 1977⁴³) und analoger Verbindungen und zeigten, daß auch Moleküle mit an

3-Position fehlender Carboxylgruppe als β -Lactamasehemmer wirken. Eglington⁴⁴ synthetisierte 1977 ein 6-triphenylmethylaminosubstituiertes 3b ($R = CH_3$) mit weit geringerer Inhibitorwirkung. Lombardi⁴⁵ gelang 1979 die Synthese des Schwefelanalogs der Clavulansäure, gefolgt von Cherry⁴⁶, der 1980 gleichfalls den Sauerstoff durch Schwefel austauschte und eine 2-Acetylthioethylidenseitenkette anheftete. Diese Derivate wiesen aber ebenfalls eine geringere Aktivität als der Grundkörper 3a auf.

In der vorliegenden Arbeit werden einerseits Verbindungen des Typs 3b (Oxapeneme, Claveme) beschrieben, die strukturell eng mit der Clavulansäure 3a verwandt sind. Sie unterscheiden sich von ihr durch die Lage der Doppelbindung und durch den Substituenten in der 3-Position. Andererseits werden monocyclische Stoffe behandelt, von denen zu erwarten war, daß sie ähnlich wirksam sind als β -Lactamasehemmer wie die Clavulansäure.

Die Oxapeneme oder Claveme werden nomenklaturgerecht als 3-substituierte 7-Oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäurederivate (3b) bezeichnet. Im folgenden wird in Anlehnung an die 1975 synthetisierten Peneme¹⁷ der einfachere Name Oxapenem verwendet, die systematische Benennung der einzelnen Verbindungen findet sich im experimentellen Teil der Arbeit.

2.2. Chemische Reaktivität der Oxapeneme ⁴⁷⁻⁵⁰

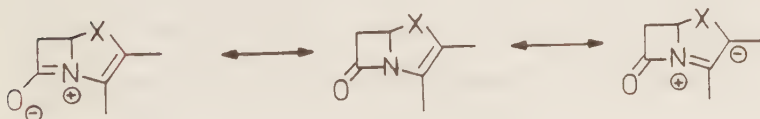
Aus dem in der Einleitung erwähnten biologischen Wirkungsprinzip der β -Lactame leiten sich mehrere strukturelle (elektronische und sterische) Anforderungen für ein wirksames Substrat ab. In erster Linie muß das Substrat ein wirksames Acylierungsreagens sein; die Amidbindung des Vierrings muß sich also leichter spalten lassen als eine acyclische Säureamidbindung. In offenkettigen Säureamiden erhält die C-N Bindung gewöhnlich einen Doppelbindungsanteil durch eine Überlappung des π -Orbitals des Stickstoffs mit den π -Orbitalen der Carbonylgruppe.

Bei den bicyclischen β -Lactamen und insbesondere den Oxapenemen ist diese Überlappung nicht mehr möglich: Die π -Orbitale von Stickstoff und Carbonylgruppe sind wegen der dachförmigen Anordnung des Vier- fünfringsystems nicht mehr parallel. Dies bedeutet, daß die stabilisierende Amidresonanz nun stark abgeschwächt wird. Die C-N Bindung verliert den Doppelbindungscharakter und wird infolge der Ringspannung labil.

Diese Labilität äußert sich beispielsweise bei der Hydrolyse. In der Tat haben sich die experimentell bestimmten Halbwertszeiten als nützliches Werkzeug erwiesen beim Auffinden neuer, biologisch wirksamer Moleküle. Dabei wird vorausgesetzt, daß ein antibakteriell wirksames Molekül, welches mit dem relevanten bakteriellen Enzym reagieren muß, auch gegenüber anderen Nucleophilen (wie z.B. Wasser)

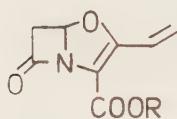
reaktiv ist. Die Labilität der C-N β -Lactambindung kann auch aus der IR-Carbonylfrequenz abgeleitet werden. Da beim Wegfallen der Amidresonanz der Doppelbindungscharakter der β -Lactam - C=O Bindung erhöht wird, zeigen solche bicyclischen β -Lactame und insbesondere die Oxapeneme eine hohe IR-Carbonylfrequenz im Bereich von 1800 cm^{-1} .

Die Einführung einer konjugierten Doppelbindung in den annelierten Fünfring erhöht den pyramidalen Charakter des Moleküls und damit die sterisch bedingte Ringspannung erneut und führt außerdem zu einer zusätzlichen elektronischen Aktivierung, d.h. einer Enamin-Resonanz. Sie wirkt der (stabilisierenden) Amidresonanz entgegen.

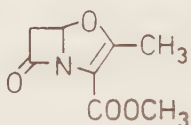


Eine besonders hohe Reaktivität zeigen daher bicyclische β -Lactame mit ausgeprägtem Dach- bzw. Pyramidalcharakter, d.h. solche mit anneliertem Fünfring mit Doppelbindung. Berücksichtigt man ferner die Bindungslängen der Atome, respektive Atomgruppen X zu ihren benachbarten Bindungspartnern im Vergleich zueinander, so erhält man die Reaktivität der zugehörigen Bicyclen in der Reihenfolge $O > CH_2 > S$, d.h. Oxapeneme sollten unter den betrachteten Verbindungen zu den instabilsten Vertretern zählen. Diese Aussage wird nicht nur durch Hydrolyseuntersuchungen der struktur-

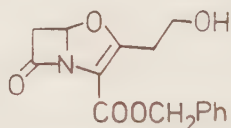
verwandten Clavulansäure gestützt⁵¹, auch zahlreiche Autoren^{40,52-54} betonen die Labilität der von ihnen hergestellten Oxapeneme bzw Clavulansäurederivate, die oft zu hohen Ausbeuteverlusten bei der chromatographischen Reinigung führt oder diese gar unmöglich macht. Das Dien 4 (R = Benzyl) beispielsweise polymerisierte beim Stehenlassen und



4

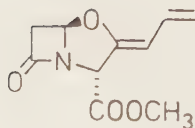


5

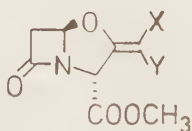


6

konnte nur bei Temperaturen < 0°C einige Wochen in einer Essigsäureethylesterlösung mit 0,01% Hydroquinon gelagert werden⁴⁴. Während der Nachweis des Methylesters 5 nur NMR-spektroskopisch gelang⁵⁵, dimerisierte 6 bereits bei Raumtemperatur im Laufe eines Tages⁵⁶. Das Dien 7 lieferte nach Ozonolyse und neutraler Aufarbeitung bereits 3 Produkte, 8a-c⁵⁷.



7



8a-c

- a) X = CH₂OH, Y = H
- b) X = CHO, Y = H
- c) X = CH₃, Y = H

Die gleichfalls hochreaktiven Zwischenstufen führten

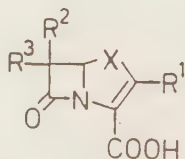
in einigen Fällen^{57,43} schon im Verlaufe der Cyclisierung zu Isomerengemischen, so daß sich Strukturbeweise auf spektroskopische Ausschlußverfahren reduzierten. Die Vertreter dieser Verbindungsklasse sind also einerseits sehr instabil und zum anderen präparativ schwierig zu handhaben. Das Interesse an ihnen ist deshalb in den letzten Jahren stark geschwunden. Sollte es jedoch möglich sein, durch die Synthese geeigneter Oxapeneme Bewertungskriterien für eine wachsende bzw. sinkende Stabilität zu ermitteln, könnten stabile Vertreter hergestellt werden, die die Bakterienenzyme u.U. wirkungsvoller inhibieren als die strukturverwandte Clavulansäure. Vergleicht man die Oxapeneme mit den schwefelanalogen Penemen und den methylenanalogen Carbapenemen, so erhält man weitere Hinweise darauf, wie sich Substitutionsort und -muster auf die Stabilität auswirken.

2.3. Einfluß des Substitutionsmusters auf die Stabilität der Oxapeneme

Die im vorangegangenen Abschnitt angesprochenen Literaturaussagen weisen alle synthetisierten Oxapeneme als mehr oder weniger labile Verbindungen aus. Neue Substituenten müßten das Grundgerüst also stabilisieren, damit das β -Lactam-Antibiotikum seinen Zielort erreicht ohne metabolisiert zu werden. Der Vierring muß ausreichend hydrolysestabil sein, um die Zielenzyme erreichen und acylieren zu

können. Das Substrat darf weder bei oraler noch bei paren-
teraler Applikation während des Transports durch den Magen-
Darm-Kanal bzw. die Blutbahn chemisch verändert werden. Die
Stabilitäten der β -Lactamverbindungen wurden durch ihre
Hydrolysegeschwindigkeiten unter physiologischen Bedingun-
gen (pH 7,4, 37°C) ermittelt. Es hat sich gezeigt, daß zu
reaktive Verbindungen mit Halbwertszeiten unter 10 Stunden
i.d.R. "in vivo" nicht mehr wirksam waren. Pharmakokineti-
sche Faktoren, wie Resorptionsrate und -geschwindigkeit,
Gewebediffusion und Verteilung im Organismus, Kumulation
und Ausscheidung, spielen desweiteren wichtige Rollen in
der endgültigen Auswahl eines verwertbaren Antibiotikums.
Da die Einführung neuer Substituenten alle genannten Ge-
sichtspunkte in kaum überschaubarer Weise beeinflusst,
bleibt ihre Wahl ein rein empirisches Problem, dem in
erster Linie die Stabilitätsfrage zugrundeliegt.

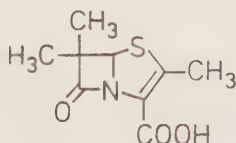
Das Molekülskelett 3b besitzt drei Substitutionsmög-
lichkeiten und zwar an den Positionen 3 und 6, woraus
Struktur 9 mit $X = O$ resultiert. Die Brückenkopfposition 5
in 3b muß unsubstituiert bleiben um das Einpassen des Bi-
cyclus an die aktive Stelle des Enzyms nicht sterisch zu
behindern.



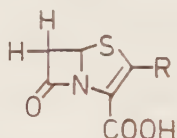
Nachdem Bewertungskriterien für Carbapeneme 9 ($X = CH_2$) ebenso bekannt waren^{4,62,63}, wie für die schwefelanalogen Peneme 9 ($X = S$)^{2,58-61}, lagen seit 1987 auch erste Untersuchungen^{64,65} über die Natur stabilisierender Substituenten bei Oxapenemen 9 ($X = O$) vor.

2.3.1. Substituenteneinflüsse bei Penemen und Carbapenemen

Kinetische Messungen an 6-substituierten Penemen zeigten einen eindeutigen Gang bezüglich der stabilisierenden Wirkung einzelner Substituenten. Die Einführung von Alkyl- oder Hydroxyalkylgruppen erhöhte die Hydrolysehalbwertszeiten unter physiologischen Bedingungen teilweise beachtlich. So stiegen die Halbwertszeiten für Verbindungen des Typs 9 mit $X = S$, $R^1 = CH_3$ und $R^2 = H$ in der Reihe $R^3 = OCH_3$, H , CH_3 von 3,6 über 100 bis auf 360 Stunden an. Das 6,6-dimethylsubstituierte Penem 10 war bereits vollständig hydrolysestabil. Woodward schrieb die Stabilität von 10 der sterischen Abschirmung der β -Lactam-Carbonylgruppe zu.



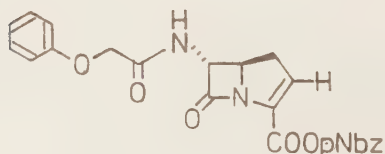
Andererseits waren Peneme mit Sauerstoff- oder Stickstoffsubstituenten (Phenoxyacetamidgruppe) wieder wesentlich labiler als unsubstituierte Vertreter 9 ($X = S$, $R^2 = R^3 = H$). Bei den 3-substituierten Penemen des Typs 11 zeig-



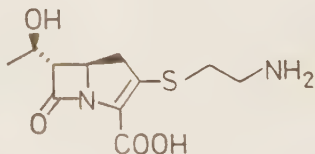
11

te sich kein eindeutiger Trend, die Mehrzahl der Derivate war aber etwas stabiler als der Grundkörper mit $R = H$.

Ein ähnlicher Verlauf bei der Hydrolysestabilität wurde auch bei den (noch instabileren) Carbapenemen beobachtet. Sie sind nur in einem engen pH-Bereich um den Neutralpunkt einigermaßen chemisch stabil. So konnte der p-Nitrobenzylester 12 nicht ohne gleichzeitige Zerstörung des Ringsystems gespalten werden, wogegen das hochaktive Breit-spektrum-Antibiotikum Thienamycin 13 erst bei höheren Konzentrationen in Wasser instabil wird. Die Aminogruppe des Cysteaminylteils spaltet intermolekular den β -Lactamring von 13.

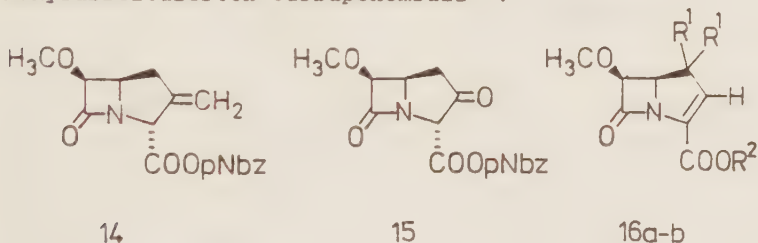


12



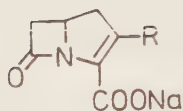
13

Die Ozonolyse des Exomethylen-carbapenems 14 führte zu instabilem öligem 15, während 16a ($R^1 = H$, $R^2 = pNbz$) nach der Hydrogenolyse - ähnlich wie 12 - nur β -lactamfreies Material ergab⁶⁶. Erst die Synthese des 1,1-dimethylsubstituierten Tetra-n-butylammoniumsalzes 16b ($R^1 = CH_3$, $R^2 = N(C_4H_9)_4$) mittels intramolekularer Aldolkondensation als Schlüsselschrittreaktion führte zum ersten stabilen 6-methoxysubstituierten Carbapenemsalz⁶⁷.

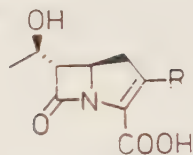


6-Stickstoff-bzw. sauerstoffs-substituierte Carbapeneme waren also sehr labil und konnten nicht isoliert werden. Die Stabilität der 6,6-unsubstituierten Typen war höher und stieg bei den 6-hydroxyalkylsubstituierten Carbapenemen noch weiter an.

Cama⁶² konnte 1983 mithilfe umfangreicher Synthesen den Einfluß zahlreicher Aryl- und Heteroarylsubstituenten R von 6-unsubstituierten Carbapenemen des Typs 17 und Thienamycinanalogen des Typs 18 bewerten und deren antibiotische Aktivitäten vergleichend diskutieren. Wie bei den Penemen war auch hier keine eindeutige Abhängigkeit der Stabilität vom Substitutionsmuster R der untersuchten Vertreter 17 und 18 zu erkennen.



17

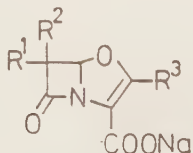


18

2.3.2. Erste systematische Stabilitätsuntersuchungen an Oxapenemen^{64,65}

Seit der Entdeckung der Clavulansäure wurde relativ wenig über Synthese und biologische Testung neuer in der Natur bisher nicht gefundener Oxapeneme geschrieben. Systematische Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Substituenten am Oxapenemgrundgerüst auf deren Halbwertszeit unter physiologischen Bedingungen lagen erst Ende 1987 vor.

Hauptsächlich wurde die Stabilität an 6,6-dimethylsubstituierten, 6-monomethylsubstituierten und 6,6-unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalzen mit schrittweise sperrigeren Alkylsubstituenten in 3-Position untersucht.



19a-f

Die ermittelten Halbwertszeiten der Hydrolysen von 19a-f deuten auf die enge Verwandtschaft dieser Verbindungsklasse zu den Penemen und Carbapenemen hin. Die Stabilität der Moleküle nahm mit sinkendem Alkylsubstitutionsgrad in 6-Position drastisch ab, ein Trend der sich in ähnlichem Maße auch für Substituenten in 3-Position abzeichnete (Tab. 1).

	R^1	R^2	R^3	$t_{1/2}$
<u>19a</u>	H	H	$C(CH_3)_3$	1,6 h
<u>19b</u>	CH_3	H	$C(CH_3)_3$	2,6 h
<u>19c</u>	CH_3	CH_3	$C(CH_3)_3$	29,5 h
<u>19d</u>	CH_3	CH_3	CH_3	0,8 h
<u>19e</u>	CH_3	CH_3	C_2H_5	1,2 h
<u>19f</u>	CH_3	CH_3	$CH(CH_3)_2$	2,0 h

19a-f: Racemisches Material

Tab. 1: Hydrolysehalbwertszeiten der Oxapenemcarbonsäuresalze 19a-f nach⁶⁵

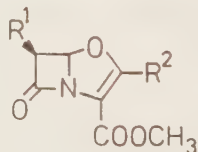
Leider war die stabilste Verbindung 19c deutlich geringer wirksam als 19b. Insgesamt wirkten sich aber sperrige Reste in 3-Position nicht unbedingt negativ auf die biologische Wirksamkeit aus.

Diese grundlegenden Untersuchungsergebnisse bestimm-

ten das weitere Vorgehen. Nun sollten auch Oxapeneme mit komplizierten, d.h. funktionalisierten Resten R^3 untersucht werden. Es mußte versucht werden, die Stabilität von Strukturen des Typs 19 durch Variation der Reste R^3 zu optimieren. Der Substitutionsgrad an der 6-Position sollte dabei so gering als möglich sein (Im Idealfall $R^1 = R^2 = H$). Zuerst mußte der betrachtete Rest R^3 dazu in die Modellsubstanz 19 ($R^1 = R^2 = CH_3$) eingeführt und dessen Stabilität gemessen werden. War das Molekül stabil genug, dann mußte versucht werden, diesen Substituenten R^3 auch in den unsubstituierten Grundkörper 19 ($R^1 = R^2 = H$) einzubauen. Die dazu nötige Synthesestrategie war in der einschlägigen Literatur bereits in wesentlichen Punkten ausgearbeitet.

2.4. Literaturbekannte Synthesewege zur Oxapenemdarstellung

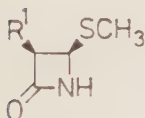
Die gezielte Darstellung des ersten Oxapenems gelang Eglington⁴⁴ mit dem Clavulansäureanalogon 20a.



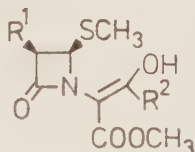
20a-b

Er gelangte über mehrere Schritte von 6-APA (1 d) zu 21 ($R^1 = NHC(C_6H_5)_3$), dessen Alkylierung mit Bromessigsäure-

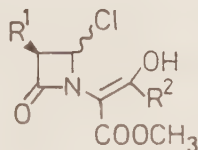
remethylester und anschließender Acylierung mit Acetylchlorid zu 22 ($R^1 = \text{NHC}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, $R^2 = \text{CH}_3$) führte, das nach Behandlung mit elementarem Chlor in Methylenchlorid instabiles 23 ($R^1 = \text{NHC}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, $R^2 = \text{CH}_3$) lieferte. Der Ringschluß zum labilen Bicyclus 20a ($R^1 = \text{NHC}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, $R^2 = \text{CH}_3$) erfolgte nach Umsetzung mit einer Mischung aus Silbertetrafluoroborat, Silberoxid und Pyridin in Methylenchlorid.



21



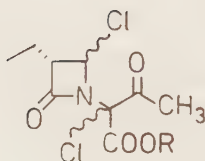
22



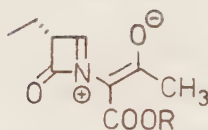
23

Bentley⁴³ gewann 20b als Nebenprodukt der ersten Clavulansäuretotalsynthese, wobei er prinzipiell den oben skizzierten Weg benutzte. Er alkylierte 21 ($R^1 = \text{H}$) mit 2-Brom-3-oxoglutarsäuredimethylester und erhielt den β -Ketodiester 22 ($R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{COOCH}_3$), dessen Behandlung mit Chlor in Tetrachlorkohlenstoff zu 23 ($R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{COOCH}_3$) und anschließende Cyclisierung mit Kaliumcarbonat in DMF zu 20b ($R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{COOCH}_3$) führte.

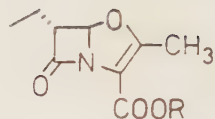
Ihara⁶⁸ beschrieb 1982 ausführlich mehrere Synthesevarianten die formal dem Weg von 21 nach 23 folgten, wobei er in Analogie zu 23 auch Dichloridzwischenstufen wie 24 nachweisen konnte, deren Cyclisierung mit Natriumthiophenolat zu 26 über Zwischenstufen vom Typ 25 verlaufen sollten.



24

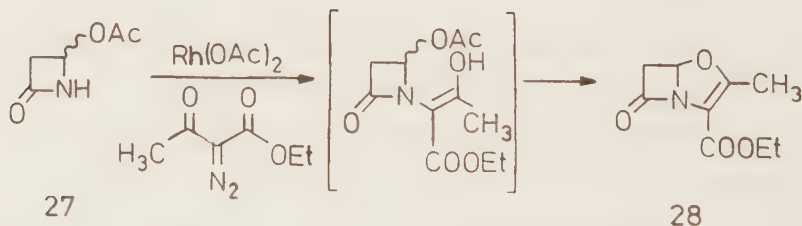


25



26

Neben der aufgezeigten konventionellen Synthesestrategie sei noch auf eine in der Literatur erschienene synthetische Kuriosität verwiesen^{69a}, die sich aber später nicht mehr reproduzieren ließ^{69b}. Hierbei handelte es sich um eine rhodiumacetatkatalysierte carbenoide Diazo- β -ketoesterinsertion in die N-H Bindung des Acetoxiazetidinons 27 zum Oxapapenem 28.



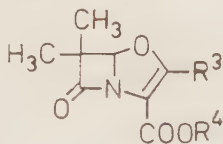
27

28

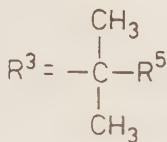
Grundsätzlich ist der aufgezeichnete Weg der bewährteste bei der Synthese von Oxapapenemen. Er benutzt die folgenden Zwischenprodukte: Azetidinon 21, N-Alkylierungsprodukt 22, Monochlorid 23 bzw. Dichlorid 24 und Bicyclen vom Typ 20. Dieses aufgezeigte Syntheschema fand in leichter Abwandlung einzelner Schritte auch in der vorliegenden Arbeit Verwendung.

3. Die Synthese neuer 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenem-carbonsäureester und -salze

Es wurden Verbindungen des Typs 29 synthetisiert, um festzustellen, wie sich der Rest R^3 auf deren Hydrolysegeschwindigkeit auswirken würde.



29



30

Es war bekannt, daß die Einführung eines t-Butylrestes R^3 eine maximale Hydrolysestabilität bewirkte. Die Halbwertszeit unter physiologischen Bedingungen betrug hier 29,5 Stunden⁶⁵. Einfache Alkylgruppen, wie etwa die t-Butylgruppe haben sich aber bei den Penemen als weniger geeignet erwiesen. Moleküle, die auf diese Weise substituiert waren, zeigten sich zwar besonders gut gegen grampositive, nicht jedoch gegen gramnegative Keime wirksam. Deshalb sollte der Einfluß polarer Gruppen bestimmt werden.

Andererseits war es sinnvoll, das bewährte Substitutionsmuster nicht allzudrastisch zu verändern. Aus diesem Grund wurden Modellverbindungen mit substituierten, tertiären Alkylresten des Typs 30 gewählt, wobei R^5 eine polare und/oder funktionalisierte Gruppe darstellt.

Als Säureschutzgruppe R^4 wurde der p-Nitrobenzylrest

gewählt, weil sich p-Nitrobenzylester besonders schnell und schonend hydrogenolytisch zur freien Säure spalten lassen, was sich angesichts relativ labiler Endstufen als günstig erweist. Darüberhinaus erlaubt die UV-Aktivität dieser Ester eine gute dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktionsabläufe. Schließlich führen p-Nitrobenzylester häufig zu kristallinen Substanzen mit scharfen Schmelzpunkten.

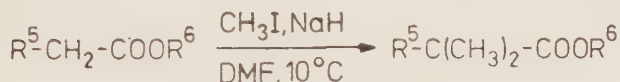
Für den Rest R⁵ gab es zunächst keine konkreten Überlegungen. Durch seine Variation sollten einmal sterische und elektronische Einflüsse auf die Stabilität der Grundstruktur untersucht werden. Zum anderen sollte seine biologische Wirksamkeit an verschiedenen Bakterienkulturen getestet werden.

Die Synthesestrategie zur Darstellung der Endstufen folgte in wesentlichen Teilen dem bereits besprochenen Schema.

3.1. Das Natriumsalz der 6,6-Dimethyl-3-[(2-methyl-2-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure als erste Endstufe

Aus elektronischen Überlegungen wurde als erster Rest R⁵ das elektronenreiche aromatische Thiophengerüst gewählt. Von ihm waren weder destabilisierende, elektronenziehende Effekte, noch eventuelle Komplikationen während der Synthese zu befürchten. Die Darstellung des Säurechlorids 34a,

über das der 2-Thienylrest eingeführt wurde, erfolgte analog zu literaturbekannten Vorschriften⁷⁰. Die Säurechloride 34b und 61 wurden nach der gleichen Methode hergestellt:

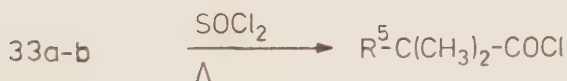


31a-b

32a-b



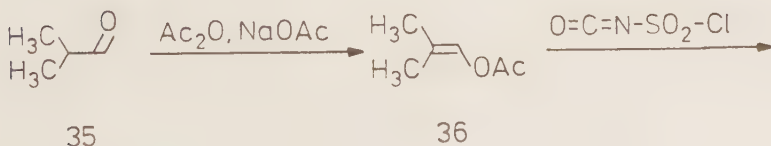
33a-b

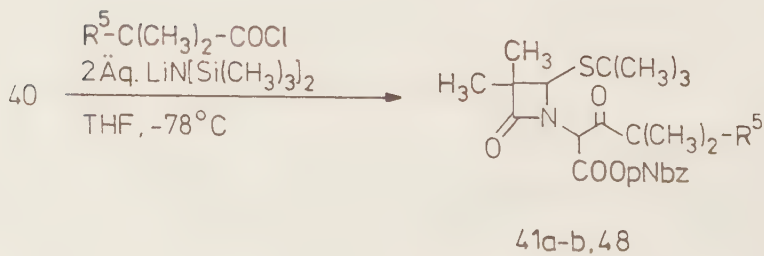
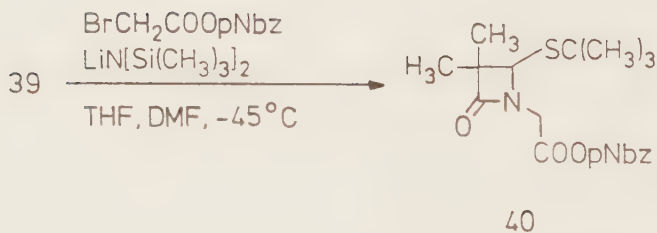
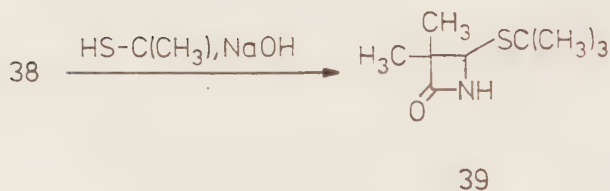
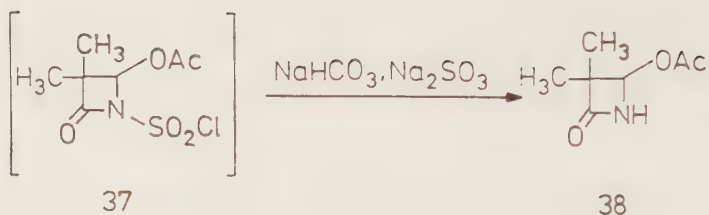


34a-b

- a) R^5 = 2-Thienyl, R^6 = Methyl
b) R^5 = Phenyl, R^6 = Ethyl

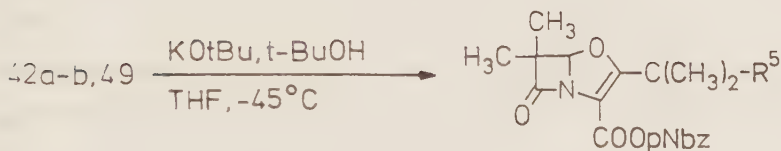
Die Synthese der ersten Endstufe 44a gelang auf dem folgenden Weg:



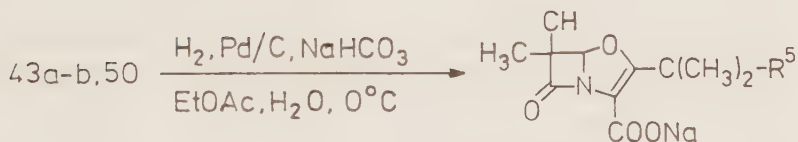




42a-b, 49



43a-b, 50



44a-b, 51

41a - 44a) R⁵ = 2-Thienyl

41b - 44b) R⁵ = Phenyl

48 - 51) R⁵ = Carboxyethyl

Die Sequenz startete mit der literaturbekannten^{71,72} Darstellung des Isobutenylacetats 36, das in gleichfalls bekannter Weise⁷³ in einer [2+2]-Cycloaddition mit Chlorsulfonylisocyanat⁷⁴ zum nicht isolierten Zwischenprodukt 37 und nach dessen Hydrolyse zum Dimethylacetoxyazetidinon 38 abreagierte.

In einer Austauschreaktion wurde die bei diesem System gute Acetoxyabgangsgruppe in wäßrigem basischen Milieu durch eine t-Butylthiogruppe ersetzt. Die nachfolgende Alkylierung des Amidstickstoffs von 39 mit Bromessigsäure-p-nitrobenzylester⁷⁵ in Gegenwart der starken nichtnucleophilen Base Lithiumbistrimethylsilylamid⁶⁸ führte in Ausbeuten um 80% (Eine Steigerung war durch Verwendung von Jodessigsäure-p-nitrobenzylester⁷⁶ anstelle des bromanalogen Esters möglich⁷⁷) zu 40, dessen CH-acide Methylen-Gruppe unter C-C - Bindungsknüpfung nach bekanntem Reaktionsvorbild⁷⁸ zum β -Ketoester 41a acyliert wurde.

41a lag wie alle weiteren analogen Acylierungsprodukte in seiner Keto- und nicht in der tautomeren Enolform vor, wie 1H-NMR-spektroskopische Untersuchungen eindeutig belegten. Im IR-Spektrum von 41a war neben der Carbonylfrequenz für gesättigte Ester bei 1750 cm^{-1} auch eine Schulter bei 1720 cm^{-1} zu erkennen, die durch ihre spezifische Bandenlage das Vorliegen der Ketoform belegte^{79,80}. Beide charakteristischen Banden waren in den IR-Spektren sowohl der analogen Ketoester 41b und 48, als auch der 6,6-unsubstituierten Vertreter 54a, 54b und 64, als auch der aus ihnen abgeleiteten chlorierten Folgeprodukte zu finden.

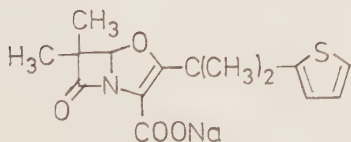
Für die Chlorierungsreaktion von 41a nach 42a wurde die auf -78°C gekühlte Methylenchloridlösung des Edukts mit einem Äquivalent Chlor in Tetrachlorkohlenstoff ($0 - 5^\circ\text{C}$) versetzt. Der Chlorgehalt wurde dabei durch Differenzwägung gemessen. Das Ausmaß der Bildung von Dichloriden des Typs

24 scheint bei dieser Reaktion vom anteilmäßigen Gehalt an enolisierter Acylierungsspezies abhängig zu sein. Weder bei 42a, noch bei den untersuchten analogen Chloriden in den späteren Synthesen konnten ¹H-NMR-spektroskopisch Dichloride nachgewiesen werden, während an andere Stelle^{65,68} das Auftreten dieser Spezies in Abhängigkeit von der Raumbeanspruchung der via Acylierung mit den verschiedenen Säurechloriden eingeführten Reste beschrieben wurde.

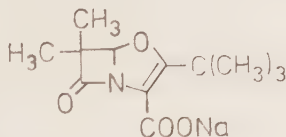
42a wurde nach säulenchromatographischer Reinigung mit nur der 10fachen Menge Kieselgel mit einem Äquivalent Kalium-t-butanolatlösung in t-Butanol bei -45°C in THF zu 43a cyclisiert.

Das Natriumsalz 44a lag nach palladiumkatalysierter, hydrogenolytischer p-Nitrobenzylesterspaltung in einem zweiphasigen Gemisch aus Essigsäureethylester und wäßriger Natriumbicarbonatlösung in wäßriger Lösung vor. Die Hydrolysestabilität bei pH 7,4 und 37°C wurde unmittelbar danach gemessen und der Rest der Salzlösung lyophilisiert.

Die UV-spektroskopisch ermittelte Halbwertszeit für 44a lag bei 13,2 Stunden. Die Verbindung war also reaktiver als 19c ($t_{1/2} = 29,5$ h).

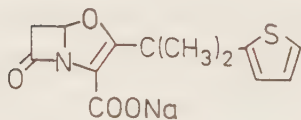


44a

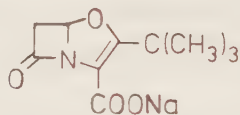


19c

Interessanterweise kehrte sich diese Reihenfolge später bei der 6,6-unsubstituierten Verbindung 57a um. Sie war mit 2 Stunden Halbwertszeit bereits stabiler als 19a mit nur 1,6 Stunden.



57a



19a

Die biologischen Tests mit 44a boten ein weniger erfreuliches Bild (siehe Tab. 2). Die antibakterielle Wirksamkeit war nur schwach ausgeprägt; ein Ergebnis das in der Folge auch bei den anderen 6,6-dimethylsubstituierten Vertretern 44b und 50 gefunden wurde (siehe Tab. 2). 44a war nur mäßig wirksam gegen grampositive Keime und zeigte keine Aktivität gegen gramnegative *Escherichia coli*.

Die vergleichsweise hohe Hydrolysestabilität von 44a ermutigte aber andererseits zur Synthese des 6,6 unsubstituierten Analogons 57a. Vorher sollte aber noch untersucht werden, wie sich der strukturell ähnliche Phenylrest anstelle des Thienylrestes auswirkte.

3.2. Synthese des Natriumsalzes der 6,6-Dimethyl-3-[(2-methyl-2-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]-hept-2-en-2-carbonsäure

Offensichtlich war die hohe Hydrolysestabilität von 44a sowohl auf die beiden Methylgruppen in 6-Position, als auch auf die Isopropylthienylsubstitution in 3-Position zurückzuführen. Es war nun eine interessante Frage, wie der elektronenärmere Phenylrest R⁵ den Bicyclus 29 beeinflussen würde. Konnte er die antibiotische Aktivität eventuell erhöhen, oder führte er zu wesentlich instabileren Verbindungen?

Die Synthesen für das Säurechlorid 34b und das Oxapenemcarbonsäuresalz 44b liefen nach den gleichen Schemata ab, wie sie in Abschnitt 3.1 skizziert wurden.

Die schonende Reaktionsführung des Acylierungsschritts von 40 nach 41b führte erneut zu einer auch bei 41a beobachteten, nahezu quantitativen Ausbeute an analysenreinem β -Ketoester. Während der nachfolgenden Chlorierung wurde die Eduktlösung mit 2 Äquivalenten Chlor umgesetzt. Damit sollte rein stöchiometrisch die Bildung eines Dichlorids ermöglicht werden. Die dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung lieferte aber wiederum keine Hinweise darauf, daß gleichzeitig oder gar ausschließlich Dichlorid gebildet wurde. Die Ausbeute nach der chromatographischen Reinigung sank jedoch drastisch von vergleichsweise 90% für 42a auf 45% für 42b ab. Auch die spektroskopischen Unter-

suchungen lieferten erneut keine Anhaltspunkte für das Auftreten von Dichloriden des Typs 24. Der Ringschluß von 42b zu 43b schloß die Bicyclensynthese schließlich mit 73%iger Ausbeute ab.

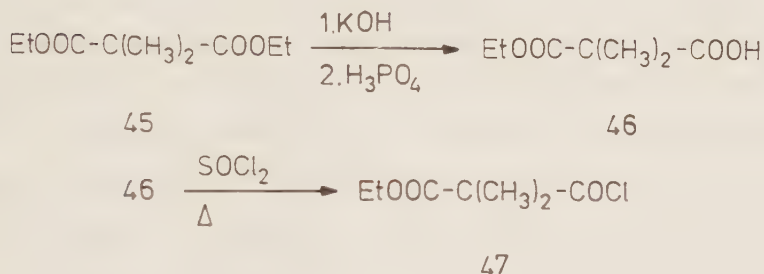
Nachdem das Natriumsalz 44b nach der Hydrierung von 43b UV-spektroskopisch vermessen werden konnte, bestätigte sich die anfänglich geäußerte Vermutung nicht, daß die Hydrolysehalbwertszeit nun merklich niedriger war. Sie lag mit 12,5 Stunden nur unbedeutend unter den für 44a gemessenen 13,2 Stunden. Damit war nachgewiesen, daß die beiden Methylsubstituenten in der 6-Position die Hydrolysestabilität der Salze 44a und 44b entscheidend beeinflussten. Die biologische Aktivität war erneut sehr gering (siehe Tab. 2) und untermauerte dadurch zusätzlich die getroffene Behauptung.

Nun erhob sich die Frage, welche Halbwertszeit das System 29 nach der Einführung eines chemisch völlig andersartigen Substituenten R⁵ liefern würde?

3.3. Die Einführung einer zweiten Carboxylgruppe

Nachdem die bisherigen Modellstrukturen 44a und 44b einen zu geringen Unterschied, sowohl in ihren physikalisch-chemischen, als auch in ihren antibiotischen Eigenschaften zeigten, durfte man gespannt darauf sein, wie sich eine vergleichsweise wesentlich polarere Carboxylgruppe in

30 auf die Struktur 29 auswirken würde. Mithilfe einer literaturbekannten Synthese für den Dimethylmalonsäuremonoethylester⁸¹ wurde über das Säurechlorid 47 ein Ethyloxy-carbonylrest in 30 eingeführt.



Durch eine leichte Abwandlung dieses Syntheseschemas könnte auch eine zweite Natriumcarboxylatgruppe eingeführt werden. Dazu müßte in der obigen Säurechloridsynthese nur der Ethylester durch einen hydrogenolytisch spaltbaren Ester (p-Nitrobenzylester) ersetzt werden. Nach der vollständigen Hydrierung des dann entstandenen Oxapenemdicarbonsäuredi-p-nitrobenzylesters könnte ein zweifaches Natriumsalz gebildet werden. Diese angedeutete Synthese wäre aber nur dann interessant, wenn die Hydrolysehalbwertszeit von 51 genügend groß ist, d.h. der Ethoxycarbonylrest stabilisierend wirkt.

Die Synthese der bicyclischen Zielstruktur 51 lief nach dem üblichen Schema ab, obwohl sie nur bis zum chlorierten Monocyclus 49 in den gewohnten hohen Ausbeuten um

90% durchgeführt werden konnte.

Das Dünnschichtchromatogramm der Chlorierung von 48 zeigte bereits dann Zersetzungsspuren, wenn die Reaktionsprobe auf der Platte noch feucht in die Chromatographiekammer gestellt wurde. Dieses instabile Verhalten ließ es ratsam erscheinen, 49 ohne chromatographische Reinigung weiterzuverwenden. Im Verlaufe des Cyclisierungs von 49 nach 50 zeichnete sich mit einer enttäuschend niedrigen Ausbeute von 16% der erste gravierende Unterschied zu den anfänglich synthetisierten Stoffen 43a und 43b ab. Erneut hatten deutliche Zersetzungsspuren auf der Dünnschichtchromatographieplatte eine dramatische Stabilitätsverringerung angekündigt.

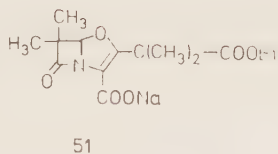
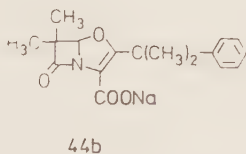
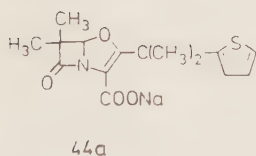
Die hydrogenolytische p-Nitrobenzylesterspaltung lief mit 50%iger Ausbeute ab. Hier machte sich zum ersten Mal der entscheidende Vorteil einer schnellen und v.a. sehr schonenden Säureschutzgruppenabspaltung bemerkbar.

Die anschließende Messung der Halbwertszeit von 51 unter den üblichen Bedingungen bestätigte die Vermutung einer drastischen Stabilitätsverringerung, die sich bereits im Verlauf der Synthese angekündigt hatte. Mit 51 Minuten war die Halbwertszeit von 51 um etwa den Faktor 15 unter die bisherigen Meßwerte abgefallen. Da 51 auch noch sehr schlechte antibiotischen Eigenschaften aufwies (siehe Tab. 2), kam diese Struktur für weitere Untersuchungen (p-Nitrobenzylester anstelle des Ethylesters) nicht mehr in Frage. Offensichtlich destabilisierte die elektronenziehende Carboxylgruppe den Bicyclus zu stark. Es war sogar zu

befürchten, daß die Synthese des 6,6-unsubstituierten Analogons bereits an zu labilen Zwischenstufen scheitern würde. Diese Vermutung bestätigte sich später auch.

3.4. Vergleich der Halbwertszeiten und antibakteriellen Aktivitäten

Die Substanzen 44a, 44b und 51, die in den folgenden Formelbildern noch einmal explizit dargestellt sind, zeigen eine deutliche Abhängigkeit ihrer Hydrolysehalbwertszeiten unter physiologischen Bedingungen vom Rest R⁵. Die bicyclischen Strukturen werden umso stabiler, je elektronenreicher die Substituenten in der 3-Position werden. Dieses Verhalten, das auch bei den Penemen und Carbapenem gefunden wurde, erscheint bei den Oxapenemen wesentlich ausgeprägter.



$$t_{1/2} = 13,2 \text{ h}$$

$$12,5 \text{ h}$$

$$0,85 \text{ h}$$

Zur Bestimmung der antibakteriellen Wirksamkeit wurden verschiedene resistente und nicht resistente Keime in Agar-

Diffusions-Tests gegen Penicillin V (1 c) und Penemcarbon-
säure getestet. Dazu wurden die beiden Referenzsubstanzen
und eine der Testsubstanzen in einer Menge von jeweils
150 µg auf die Bakterien-Agar-Platten aufgetragen und diese
15 Stunden bei 37°C bebrütet. Als Vergleichsmaß für die
antibiotische Wirksamkeit der getesteten Verbindungen dien-
ten die Durchmesser der Hemmhöfe, deren Angabe in Millime-
tern erfolgte. Die Lösungen der zu testenden Oxapenemcar-
bonsäuresalze 44a, 44b und 51 wurden vor Beginn der Tests
jeweils frisch aus den entsprechenden p-Nitrobenzylestern
durch Hydrierung hergestellt.

Tab. 2 gibt einen zusammenfassenden Überblick der ge-
messenen Hemmhofdurchmesser. Die antibiotischen Testergeb-
nisse bieten aber insgesamt ein weniger aussagekräftiges
Bild als die Halbwertszeiten der drei Endstufen.

	Pen. V (1 c)	Penemcar- bonsäure	44a	44b	51
S. aureus					
012484/77	10	40	23	30	11
Pen.- res.					
S. aureus					
1104	46	41	27	/	0
E. coli					
DSM 1103	14	35	0	0	0
E. coli					
W 3110	0	16	0	/	0
R 6 K					
Pseudomon.					
aeruginosa	0	18	0	/	0
DSM 1117					

Tab. 2: Bakterien-Agar-Diffusionstests der 6,6-Dimethyloxapenemcarbonsäuresalze 44a, 44b und 51 im Vergleich zu den Referenzsubstanzen Penicillin V und Penem-2-carbonsäure; angegeben sind die Hemmhöfe in mm

Aus Tab. 2 ist zu entnehmen, daß bereits 6,6-dimethyl-substituierte Oxapenemcarbonsäuresalze als Substrate der zellwandsynthetisierenden Enzyme fungieren, wenn auch in den meisten Fällen unwirksamer als Penicillin V. Gegen den penicillinresistenten *Staphylococcus aureus* dagegen zeigten aber alle drei Testsubstanzen eine teilweise wesentlich bessere Wirksamkeit als Penicillin, auch wenn sie gegen gramnegative Keime wie *Escherichia coli* völlig unwirksam blieben.

Vergleicht man die Salze in ihrer Wirkung untereinander, tritt interessanterweise etwa die gleiche Abstufung auf, wie sie schon von den Halbwertszeiten her bekannt war: 44a $\approx$ 44b > 51.

Nachdem unter den dargestellten Oxapenemen mit dem gewünschten Substitutionsmuster relativ stabile Vertreter gefunden waren, bestand die Hoffnung, auch ihre 6,6-unsubstituierten Analoga darstellen zu können. Bei diesen Verbindungen bestand dann die Hoffnung, daß sie wesentlich wirksamer wären^{82,83}.

4. Die Synthese der 6,6-unsubstituierten Analoga

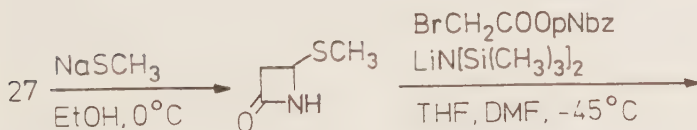
Ein Blick auf die früher erwähnten Stabilitätsuntersuchungen an Penemen, Carbapenemen und den wenigen bekannten Oxapenemen ließ für die 6,6-unsubstituierten Vertreter von 44a, 44b und 51 eine erhebliche Stabilitätsminderung ver-

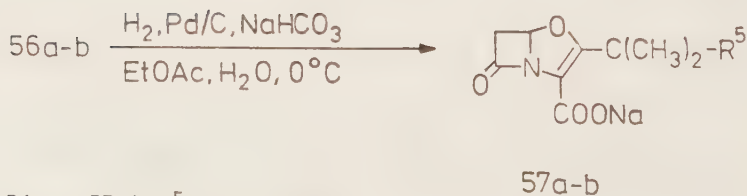
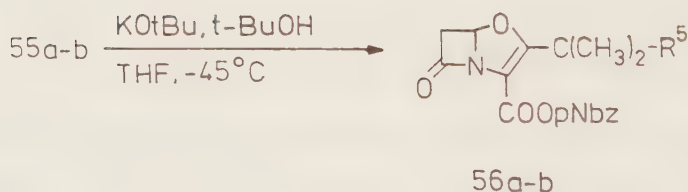
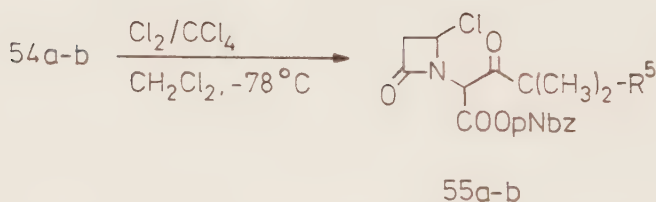
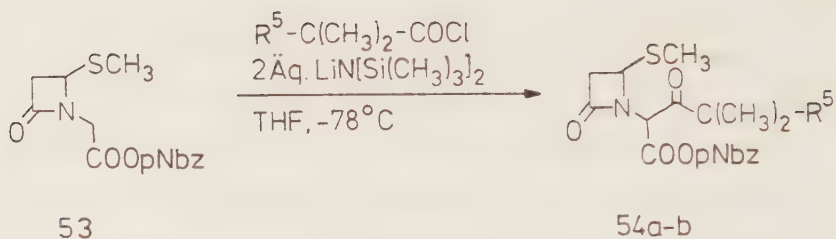
muten. Andererseits wurde jedoch eine wesentlich verbesserte antibakterielle Wirksamkeit erwartet^{65,82,83}, wenn die beiden sperrigen Methylgruppen verschwinden würden.

Diese Überlegung spielte auch im Zusammenhang mit Theorien von Coulson und Knowles über sterische Anforderungen an einen β -Lactamaseinhibitor eine bedeutende Rolle^{82,83}. Um die gestellten Fragen konkret beantworten zu können, mußten die 6,6-unsubstituierten Analoga dargestellt werden.

4.1. Darstellung des Natriumsalzes der 3-[(2-Methyl-2-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure

Die Synthese der 6-unmethylierten Oxapenemcarbonsäuresalze lief formal nach dem aus Abschnitt 3.1. bekannten Schema ab.





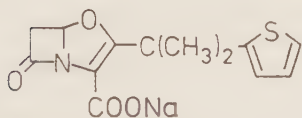
54a - 57a) R⁵ = 2-Thienyl
 54b - 57b) R⁵ = Phenyl

Ausgehend vom unsubstituierten Acetoxiazetidinson 27,
 das in Abschnitt 2.4. in anderem Zusammenhang bereits er-

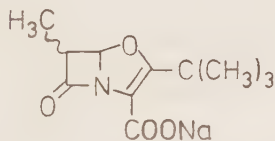
wähnt wurde, erfolgte der bekannte⁸⁴ Acetoxy-Methylthio-austausch in 87%iger Ausbeute, gefolgt von der Alkylierung des Amidstickstoffs durch Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in nur noch 65% Ausbeute. Im Vergleich zu den Synthesen der 6,6-dimethylierten Verbindungen waren die Ausbeuten hier i.d.R. niedriger.

Die Acylierung der Methylengruppe verlief mit fast 25% niedrigerer Ausbeute als die analoge, nahezu quantitative Umsetzung der bismethylierten Vergleichssubstanz 44a. Auf die problemlose Darstellung des Chlorierungsproduktes 55a folgte der Ringschluß mit frisch hergestelltem Kalium-t-butanolat zum Bicyclus 56a.

Der Oxapenemcarbonester wurde in gewohnter Weise in einer zweiphasigen Mischung hydriert und ergab das gewünschte Na-Salz der 6-unsubstituierten Oxapenem-2-carbonsäure (57a). Die Hydrolyse von 57a erfolgte mit einer Halbwertszeit von 2,05 Stunden. Vergleicht man mit dem Wert von 51 ($t_{1/2} = 0,85$ Stunden), so konnte 57a bereits mehr als die doppelte Halbwertszeit vorweisen. Die Hydrolysestabilität von 57a lag somit bereits in der Größenordnung derjenigen des 6-monomethylsubstituierten Vertreters 19b ($t_{1/2} = 2,6$ Stunden).



57a



19b

Die antibakteriellen Aktivitäten von 57a übertrafen mit einer Ausnahme sogar die beiden Referenzsubstanzen Penicillin V und Penemcarbonsäure (siehe Tab. 4, Seite 56).

4.2. Das Natriumsalz der 3-[(2-Methyl-2-Phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure

Die Acylierung von 53 mit 34b zu 54b täuschte mit überraschenden 86% Ausbeute im ersten Reaktionsschritt eine fast routinemäßige Synthesesequenz vor. Dieser Eindruck wurde aber spätestens durch die Chlorierungsreaktion von 54b nach 55b korrigiert. Eine Ausbeute unter 50% trotz schonender Chromatographie kündigte wieder labilere Produkte an. Tatsächlich lief die Cyclisierungsreaktion zu 56b dann nur noch mit 35%iger Ausbeute ab und lieferte nach der Hydrierung das labilste aller synthetisierten Natriumsalze, 57b, mit einer Halbwertszeit von 16 Minuten!

Trotz 16 Minuten Halbwertszeit war eine antibakterielle Wirksamkeit gegen Staphylococcus aureus immer noch deutlich nachweisbar (siehe Tab. 4). Gegen die gramnegativen Escherichia coli lieferte 56b nahezu gleichgroße Hemmhöfe wie Penicillin V.

4.3. Ein Syntheseversuch

Nachdem 51 in der Reihe der 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze die instabilste Verbindung war, war es zweifelhaft, ob sein 6,6-unsubstituiertes Analogon überhaupt synthetisiert werden konnte. Andererseits war es jedoch wichtig die physikalisch-chemischen und antibiotischen Eigenschaften dieser Verbindung zu ermitteln, sofern sie isolierbar war.

Die Acylierung von 53 mit dem Säurechlorid 47 lieferte nach säulenchromatographischer Reinigung das zu 54a formale Analogon, einen gemischten α,δ -Diester ($R^5 = \text{COOEt}$) in 53%iger Ausbeute. Bei der Chlorierungsreaktion war die Ausbeute bereits auf 5% gesunken.

Der Cyclisierungsversuch zerstörte schließlich den β -Lactamring. Im IR-Spektrum des Rohprodukts war nur noch eine schwache Bande bei 1790 cm^{-1} zu erkennen, nachdem das Dünnschichtchromatogramm ausschließlich Zersetzungsspuren gezeigt hatte.

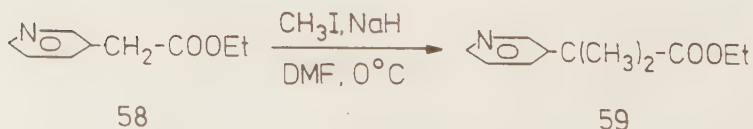
Dieser synthetische Fehlschlag bestätigte die Vermutung, daß die Stabilitätsreihenfolge der untersuchten Substituenten in 3-Position auch für die 6,6-unsubstituierten Vertreter gültig war. Nach den bisherigen Synthesen blieb aber die Frage offen, ob der Einfluß des Restes R^5 in 30 ausschließlich auf elektronische Effekte zurückzuführen war? Konnten nicht auch sterische Effekte oder polare Wechselwirkungen die Hydrolysestabilität einer Oxapenemcarbonsäure

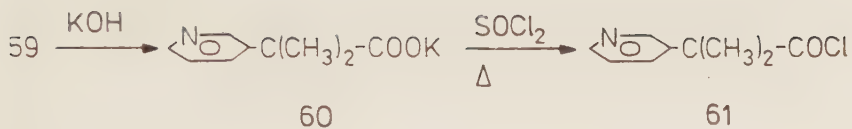
beeinflussen? Um dieser Frage auf den Grund zu gehen, bot sich ebenfalls die 6,6-unsubstituierte Struktur an, da sie - wie gezeigt - auf einen Substituentenwechsel in der 3-Position wesentlich empfindlicher reagierte als die 6,6-dimethylierte Verbindung.

4.4. Darstellung eines 3-[(2-methyl-2-(3-pyridyl)ethyl)-substituierten Oxapenemcarbonsäuresalzes

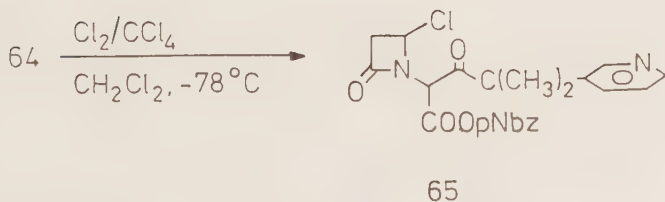
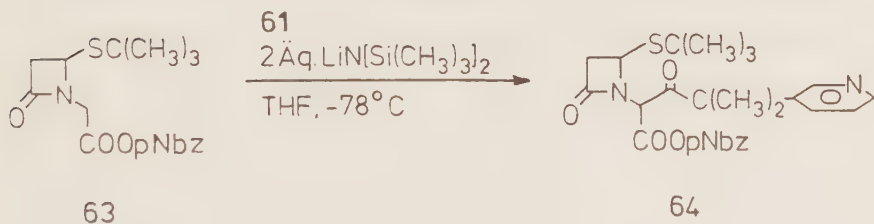
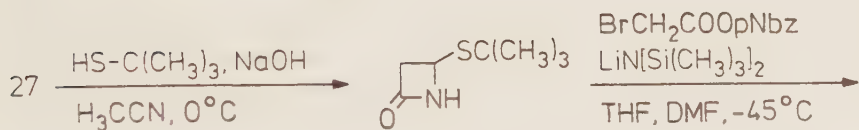
Ein dem Phenylrest sterisch sehr ähnlicher Substituent ist der 3-Pyridylrest. Im Unterschied zu ersterem verursacht der Stickstoff jedoch eine deutliche Polarisierung von Partialladungen im Ring. Diese Partialladungen sollten sich aber wegen der meta-Substitution des Pyridylrings nur mäßig elektronenziehend auf den quaternären Kohlenstoff in 30 auswirken.

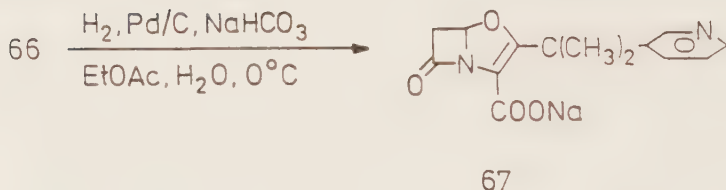
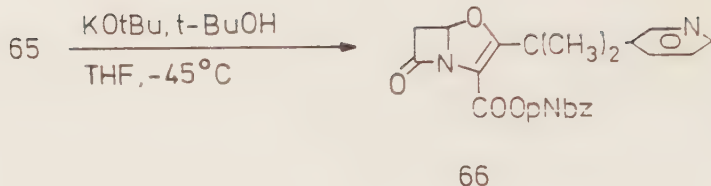
Das zur Einführung der Pyridylgruppe nötige Säurechlorid konnte in leichter Abwandlung des unter 3.1. angesprochenen Schemas dargestellt werden.





Der formale Aufbau des Bicyclus folgte der bekannten Synthesesequenz.





Die Synthese lief bis zur Stufe des N-alkylierten Monocyclus 63 in gewohnter Weise ab. Erst mit dem Beginn der Acylierungsreaktion von 63 nach 64 mußten größere synthetische Hürden überwunden werden.

Nach den ersten wenig erfolgreichen Ansätzen begann sich nämlich ein Zusammenhang zwischen der Ausbeute an 64 und der Qualität des eingesetzten Säurechlorids abzuzeichnen. Nur wenn 61 unmittelbar nach seiner destillativen Reinigung weiterverwendet wurde, konnte 64 überhaupt isoliert werden, aber nur in bestenfalls 36% Ausbeute. Dieses Ergebnis war offenbar eine Folge der Labilität des Säurechlorids 61, dem IR- und $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen nur eine Lebenszeit von wenigen Stunden bei gekühlter Lagerung zuschrieben.

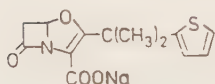
Nach der Umsetzung von 64 mit Chlor mußte auf eine chromatographische Reinigung verzichtet werden. Das Dünn-

schichtchromatogramm hatte deutliche Zersetzungsspuren erkennen lassen. Die abschließende Cyclisierungsreaktion lieferte 66 schließlich in nur noch 28% Ausbeute als gelbes Öl.

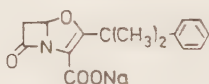
Die Messung der Hydrolysehalbwertszeit von 67, das in gewohnter Weise in Form einer wäßrigen Lösung bei der katalytischen Hydrierung des Esters gewonnen wurde, sorgte nun für eine Überraschung. Trotz des instabilen Verhaltens während der gesamten Synthese lag die Halbwertszeit der Endstufe mit 58 Minuten unerwartet hoch. Obwohl dieser Wert nicht darüberhinwegtäuschen darf, daß 67 mit seinem Hydrolyseverhalten nur etwa die halbe Stabilität des "Spitzenreiters" 57a vorweisen konnte, war es doch wesentlich stabiler als das vergleichbare 57b. Gerade aber dieses Meßergebnis deutet an, daß auch andere als rein elektronische Effekte die Hydrolysestabilität der untersuchten Oxapenem-carbonsäresalze beeinflussen. Die mit 67 erzielten hohen antibakteriellen Aktivitäten (siehe Tab. 4) waren als weiterer interessanter Erfolg zu werten.

4.5. Diskussion der Meßergebnisse der 6,6-unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze

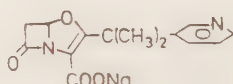
Die gemessenen Hydrolysehalbwertszeiten der Salze 57a, 57b und 67 demonstrieren erneut, daß die Stabilität der Salze sehr stark vom Substitutionsmuster in 3-Position abhängt. Dieses Ergebnis war aber auch schon für die analogen 6,6-bismethylierten Vertreter in Abschnitt 3.4. gefunden worden.



57a



57b



67

$$t_{1/2} = 2,05 \text{ h}$$

$$0,27 \text{ h}$$

$$0,97 \text{ h}$$

Das Substituentenmuster übt nicht nur durch elektronische Effekte, sondern auch über polare Wechselwirkungen und möglicherweise sterische Effekte einen u.U. komplexen Einfluß auf den bicyclischen Grundkörper aus. Die Untersuchungen der Salze 44a und 57a deuten aber in jedem Fall darauf hin, daß eine hohe Elektronendichte am quaternären Kohlenstoffatom des Molekülteils 30 die Halbwertszeit verlängert. Sie erhöht nämlich den Anteil der in Abschnitt 2.2. abgebildeten zwitterionischen Grenzstruktur für den β -Lactamring.

Als Maß für die Amidresonanz des Vierrings kann - wie

bereits erwähnt - die Größe der IR-Carbonylfrequenz des β -Lactamrings angesehen werden. Wie Tab. 3 zeigt, steigen die entsprechenden Schwingungsfrequenzen (in cm^{-1}) der dargestellten Salze tatsächlich in der Reihe fallender Halbwertszeiten (in Stunden).

	44a	44b	57a	67	51
$t_{1/2}$	13,2	12,5	2,05	0,97	0,85
IR(C=O)	1777	1778	1780	1785	1786

Tab. 3: Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten der dargestellten Oxapenemcarbonsäuresalze mit den dazugehörigen IR-Schwingungsfrequenzen der entsprechenden β -Lactamcarbonylbanden

Vergleicht man die Hydrolysehalbwertszeiten der 6,6-unsubstituierten Verbindungen mit denen der 6,6-Dimethyloxapenemcarbonsäuresalze, kann man einen teilweise dramatischen Stabilitätsverlust feststellen. Diese offensichtliche Analogie zu den Penemen und Carbapenemen ist auf den Verlust der beiden Methylsubstituenten in der 6-Position zurückzuführen.

In ihren antibakteriellen Eigenschaften (siehe Tab. 4) unterschieden sich die Salze 57a, 57b und 67 grundlegend von den Dimethylverbindungen 44a und 44b.

	Pen. V (1 c)	Penemcar- bonsäure	57a	57b	67
S. aureus					
012484/77	7	27	35	28	27
Pen.- res.					
S. aureus					
1104	34	23	40	/	27
E. coli					
DSM 1103	7	20	26	13	21
E. coli					
W 3110	0	12	20	/	20
R 6 K					
Pseudomon.					
aeruginosa	0	8	0	/	0
DSM 1117					

Tab. 4: Antibakterielle Aktivitäten der 6-unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze 57a, 57b und 67 im Vergleich zu den Referenzsubstanzen Penicillin V und Penem-2-carbonsäure; aufgetragen wurden jeweils 10µg der Substanzen

Während 44a, 44b und 51 gegen gramnegative Keime völlig unwirksam blieben, übertrafen 57a, 57b und 67 Penicillin V ausnahmslos bei *Escherichia coli*. 57a und 67 zeigten eine beachtliche Aktivität gegen die β -lactamaseproduzierenden *Escherichia coli* W 3110. Ihr Hemmhofdurchmesser entsprach nahezu dem doppelten der Penemcarbonsäure.

57a wirkte sowohl gegen die penicillinresistenten, als auch gegen die nichtresistenten, grampositiven Staphylokokken bakterizider als die Referenzsubstanzen. Es war in jedem Fall das wirksamste der untersuchten Oxapenemcarbonsäuresalze. In der Reihe der 6-unsubstituierten Vertreter dürfte dies wohl mit seiner hohen Halbwertszeit zu begründen sein.

Ein Vergleich aller getesteten Salze bewies, daß sich eine 6,6-Disubstitution zwar günstig auf die Hydrolysehalbwertszeit, aber sehr ungünstig auf die Bindung an die Zielenzyme und damit auf die antibakteriellen Eigenschaften auswirkte. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den in Abschnitt 4. bereits angesprochenen Theorien von Coulson und Knowles über die sterischen Anforderungen an ein wirksames β -Lactam.

5. Monocyclische β -Lactam-Antiobiotika

Die in den beiden letzten Abschnitten vorgestellten, neuen Oxapenemcarbonsäuresalze besaßen beachtliche, die Referenzsubstanzen Penicillin V und Penem-2-carbonsäure teilweise erheblich übertreffende, antibiotische Aktivitäten. Die Frage nach den inhibierenden Eigenschaften dieser Substanzen war dadurch etwas in den Hintergrund gedrängt worden.

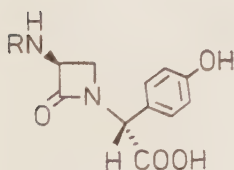
Die ursprüngliche Absicht war es, mit β -Lactamen vom Typ 3b und ihren 6,6-dimethylierten Homologen wirksame β -Lactamaseinhibitoren darzustellen. Im Gegensatz zu 3a, das selbst nur inhibierend wirkt, waren die dargestellten Oxapenemcarbonsäuresalze darüberhinaus antibakteriell hochwirksam.

Es war bekannt, daß auch monocyclische β -Lactame antibakteriell wirksam sind und einige Vertreter dieser Substanzklasse β -lactamaseinhibierende Eigenschaften besitzen. Es sollte deshalb versucht werden, neue β -Lactame darzustellen, die ähnlich der Clavulansäure inhibierende Eigenschaften besitzen, aber im Gegensatz zu den Oxapenemen aus nur einem heterocyclischen Ring bestehen. Die ersten natürlichen monocyclischen β -Lactame, die systematisch untersucht wurden, waren die Nocardicine und Monobactame.

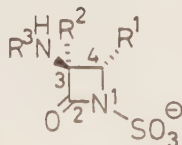
5.1. Nocardicine und Monobactame

Obwohl bereits vorher einige monocyclische β -Lactame natürlichen Ursprungs gefunden worden waren⁸⁶⁻⁸⁸, begann die systematische Untersuchung erst, nachdem modernere Methoden zum Auffinden neuer Antibiotikastrukturen entwickelt waren^{3,89}. Der Einsatz hochempfindlich gezüchteter Bakterien-Teststämme ermöglichte die Entdeckung neuer Klassen monocyclischer β -Lactam-Antibiotika.

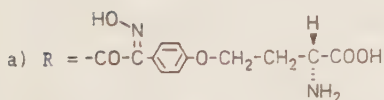
1975^{18,90} wurden aus Actinomycetenstämmen von "Nocardia uniformis" die ersten Vertreter der Nocardicine, 68a und 68b isoliert. Diese besaßen aber abgesehen von 68a mit mäßiger Wirkung gegen einige gramnegative Keime keine therapeutische Relevanz.



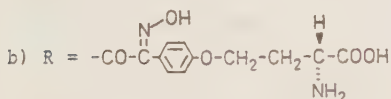
68a-c



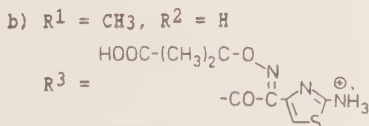
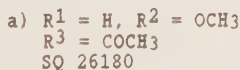
69a-c



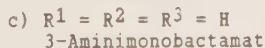
Nocardicin A



Nocardicin B



Aztreonam



Die wichtigste Gruppe der monocyclischen β -Lactame, die Sulfacezine oder Monobactame wurde erst 1981 beschrieben²⁰. Das entscheidende Merkmal dieser Substanzen vom Typ 69 ist ein 3-acylamidosubstituierter β -Lactamring mit der in der Natur sehr seltenen N-Sulfonsäuregruppierung.

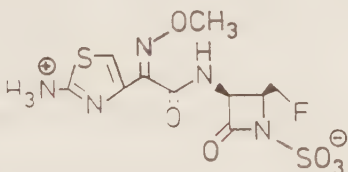
Anders als Penicilline, Cephalosporine oder Nocardine sind Monobactame keine Stoffwechselprodukte von Pilzen oder Actinomyceten, sondern von Bakterien. Durch Röntgenstrukturanalyse⁹¹ und Synthese der Enantiomeren²⁰ wurde bewiesen, daß die absolute Konfiguration wirksamer Monobactame identisch zu der, der 7-Methoxycephalosporine bzw. Penicilline⁹² ist. Die neuen, weitgehend penicillinasebeständigen Stoffe waren jedoch nur in geringem Maße gegen gramnegative Stämme und Pseudomonaden wirksam. Gegen grampositive Erreger bestand nahezu keine Wirksamkeit.

Eine stereospezifische Darstellung von 69c⁹³ erlaubte dann auch die Herstellung 4-alkylierter Monobactame, wobei sich Threonin als geeignetes Edukt mit 2 Asymmetriezentren anbot. Strukturvariationen am Acylamidorest führten schließlich zum parenteral applizierbaren Aztreonam, 69b, mit hoher Wirksamkeit gegen gramnegative Bakterien und Pseudomonaden.

Aufgrund der teilweise hohen antibiotischen Aktivitäten bestimmter Monobactame^{4,94-96} und der Beobachtung, daß sich einige Monobactamderivate hervorragend als β -Lactamaseinhibitoren eignen⁹⁷⁻⁹⁹, erhob sich die Frage nach der Aktivierung des acylierenden β -Lactamrings. Die sinkende

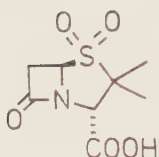
Wirksamkeit N-substituierter Azetidinone in Abhängigkeit vom Elektronenzug des Substituenten am β -Lactamstickstoff legt den Schluß nahe, daß Monobactame ihre Aktivität der elektronegativen Sulfonatgruppe verdanken⁹⁷. N-unsubstituierte β -Lactame sind bereits völlig unwirksam.

Auch die Veränderung des Monobactamsubstituenten in 4-Position wurde vielfach untersucht. Das Ergebnis war, daß Alkylsubstituenten zwar die Stabilität der Monobactame gegen β -Lactamasen erhöhen. Sobald sie aber größer als Methylsubstituenten sind, sinkt die antibakterielle Aktivität^{97,100,101}. Besondere Beachtung fand aber das 4-Fluormethylmonobactam 70 wegen seiner hohen antibiotischen Aktivität gegen einige gramnegative Keime¹⁰²⁻¹⁰⁴.

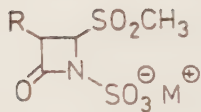


70

Es war nun eine interessante Frage, wie sich eine strukturelle Kombination aus einem Monobactamskelett vom Typ 69 und dem β -Lactamaseinhibitor Sulbactam, 71, auf die antibakteriellen und β -lactamaseinhibierenden Eigenschaften der resultierenden Struktur 72 auswirken würde?



71

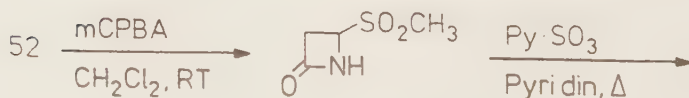


72

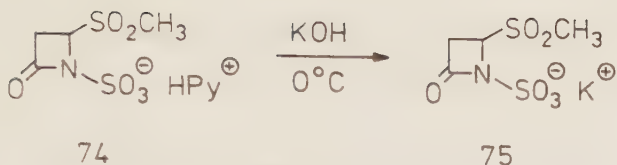
5.2. Das Kaliumsalz der 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure

Mit der Synthese des einfachsten Vertreters für 72 (R = H) sollten die antibiotischen Eigenschaften des Grundkörpers getestet werden. Seine antibakteriellen Aktivitäten würden zeigen, welche weiteren Reste R zu wirksamen Verbindungen führten.

Die Darstellung des Kaliumsalzes 75 startete mit dem aus Abschnitt 4.1. bekannten 4-Methylthioazetidinon 52 und lief nach dem folgenden Schema ab:



73



Für die anfängliche Oxidation der Thiomethylgruppe in 52 zu 73 wurden 2 Varianten getestet, von denen sich aber die schematisch dargestellte durchsetzen konnte. Bei ihr war sowohl die Ausbeute höher, als auch die Reaktionsführung einfacher, als bei der Oxidation mit schwefelsaurer Kaliumpermanganatlösung.

Die Knüpfung der N-Sulfonsäurebindung am unsubstituierten Amidstickstoff von 73 gelang auf wohlbekanntem Weg^{101,105-110}. Dabei wurde ein frisch hergestelltes Pyridin-Schwefeltrioxid-Adukt¹¹¹ aus Pyridin und Chlorsulfonsäuretrimethylsilylester verwendet.

74 fiel nach Umkristallisation aus einem Methanol/Ethanol - Gemisch mit 79% Ausbeute in perlmuttfarbenen Blättchen an. Diese wurden mit eingestellter Kalilauge bis zur Neutralität titriert und die wäßrige Lösung anschließend im Hochvakuum lyophilisiert, wonach das Kaliumsalz 75 zurückblieb.

5.3. Die biologischen Aktivitäten der 3-unsubstituierten
Azetidinonsulfonsäuresalze 74 und 75

Tab. 5 faßt die ermittelten antibakteriellen und β -lactamaseinhibierende Eigenschaften der Salze 74 und 75 zusammen.

	Pen. G (1 b)	74	75	Pen. G + 74	Pen. G + 75

S. aureus					
012484/77	20	7	7	20	20

S. aureus					
23824	7	7	8	9	9

Tab. 5: Bakterien-Agar-Diffusionstests der Azetidinon-N-sulfonsäuresalze 74 und 75; aufgetragen wurden jeweils 30 μ l 0,5Gew% Lösungen der Substanzen in DMSO

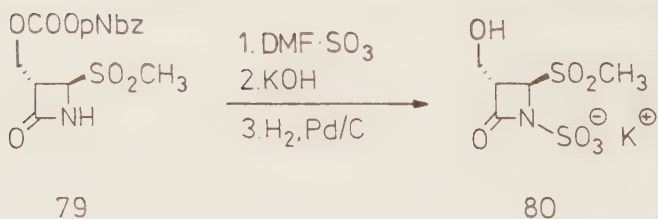
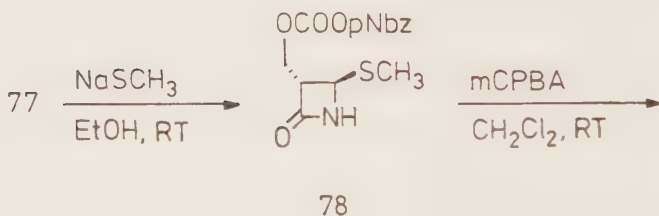
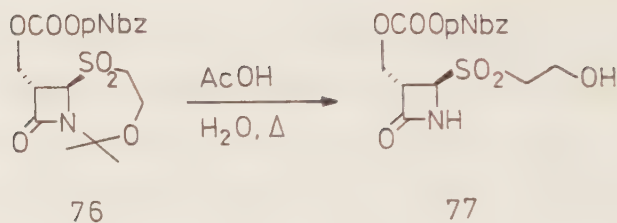
Für die Bakterien-Agar-Diffusionstests wurden die beiden β -lactamasaproduzierenden Keime Staphylococcus aureus 23824 und 012484/77 verwendet. Dabei wurden gleiche Substanzmengen von Penicillin G, von Azetidinonsulfonsäuresalz und eines 1:1 Gemisches aus beiden auf die Platten aufgetragen und die gebildeten Hemmhöfe miteinander verglichen.

Während Penicillin G gegen die resistenten Staphylokokken eine mäßige bis schlechte Wirkung entfaltete, blieben die beiden Salze 74 und 75 nahezu wirkungslos. Wenn sie aber zur Inhibierung der von den resistenten Keimen gebildeten β -Lactamasen fähig wären, müßte sie diese irreversibel acylieren, wonach das Penicillin seine volle Wirkung entwickeln könnte. Die Hemmhöfe der kombinierten Substanzen waren aber nur unbedeutend größer als diejenigen der Einzelsubstanzen. Der Unterschied der Radien lag zudem bereits im Bereich der Ablesegenauigkeit. Die untersuchten Salze 74 und 75 zeigten also weder eine inhibierende Fähigkeit, noch eine eigenständige antibakterielle Aktivität.

Entweder waren die Salze zu stabil, d.h. ihre acylierenden Fähigkeiten zu gering, oder sie besaßen zu schlechte Penetrationseigenschaften um den Wirkort zu erreichen. Der letzte Punkt sollte durch die Einführung eines polaren Restes in die 3-Position des Moleküls 72 abgeklärt werden.

5.4. Das 3-hydroxymethylierte 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäuresalz

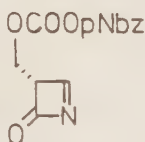
Als geeignetes Ausgangsmaterial zur Darstellung von 3-hydroxymethyliertem 72 ($R = CH_2OH$, $M^+ = K^+$) bot sich das 3,4-transständige, bicyclische p-Nitrobenzylcarbonat 76 an.



Die für das analoge 3-hydroxyethylierte Substrat literaturbekannte⁵⁹ Aminoketalhydrolyse mit wäßriger Essigsäure unter Rückflußbedingungen lieferte hier in quantitativer Ausbeute das 4-hydroxyethylidensubstituierte, monocyclische β -Lactam 77.

Der Substituentenaustausch in 4-Position gegen die Thiomethylgruppe ließ - ähnlich wie die analoge Umsetzung mit 27 - nach Clauß⁷³ gute Ausbeuten erwarten. Das $^1\text{H-NMR}$ -

Spektrum von 78 bewies zudem durch die "diagnostische" Kopplungskonstante $^3J_{3,4}$ von 2 Hz eine ausschließliche trans-Anordnung der Ringsubstituenten in 3- und 4-Position¹¹². Die fehlende Konfigurationsumkehr des Prozesses von 77 nach 78 legte eine strenge stereochemische Reaktionskontrolle nahe, die über das Acylimin 81 verlaufen dürfte¹¹³.



81

Die Reaktionsführung bei der Oxidation von 78 zu 79 war aus der entsprechenden Umsetzung des 3-unsubstituierten Vertreters bekannt und gewährleistete erneut eine hohe, 84%ige Ausbeute an farblosem 79.

Für die nachfolgende Sulfonierung des β -Lactamstickstoffs wurde frisch bereitetes DMF-Schwefeltrioxid-Addukt (Herstellung analog¹¹¹) verwendet, nachdem mehrere gleichlaufende Ansätze mit Pyridin-N-sulfonsäure äußerst schlechte Ausbeuten geliefert hatten. Die carbonatgeschützte Azetidinonsulfonsäure wurde ohne weitere Reinigung mit eingestellter Kalilauge neutralisiert und in einem Wasser/Methanol - Gemisch mit Palladium auf Aktivkohle katalytisch zur Endstufe 80 hydriert.

5.5. Antibakterieller Test des 3-hydroxymethylierten Azetidinonsulfonsäuresalzes 80

Die Ausführung der Bakterien-Agar-Diffusionstests verlief analog zu den unter Abschnitt 5.3. beschriebenen Versuchen. Zusätzlich wurden die beiden gramnegativen Stämme *Escherichia coli* DSM 1103 und W 3110 R 6 K (β -Lactamaseproduzent) untersucht. Tab. 6 gibt einen Überblick über die Testergebnisse.

Während Penicillin G die beste Wirkung gegen den nichtresistenten *Staphylococcus aureus* DSM 1104 zeigte, war die Testsubstanz nur schwach antibiotisch wirksam. Sie besaß keine inhibierende Wirkung. Gegen den resistenten *Staphylococcus aureus* 23824 war in keinem Fall eine signifikante Wirkung zu beobachten.

Die gramnegativen *Escherichia coli* sprachen - wie erwartet - wesentlich schwächer auf Penicillin G an. Eine Kombination mit dem Salz 80 führte dagegen zu einer geringen Erweiterung des Hemmhofdurchmessers. Ein überraschend erfreuliches Bild bot sich bei den β -lactamaseproduzierenden *Escherichia coli* W, 3110. Der Hemmhofdurchmesser einer 1:1 Mischung aus Penicillin G und Azetidinonsulfonsäuresalz 80 hatte sich im Vergleich zur mäßig wirksamen Referenzsubstanz verdoppelt. Dies war aber kein Indiz für eine Inhibitorwirkung. 80 zeigte bereits alleine eine antibakterielle Wirkung, die derjenigen des Penicillins weit überlegen war.

	Pen. G	80	Pen. G
	(1 c)		+ 80
S. aureus			
DSM 1104	60	15	60
S. aureus			
23824	6	6	7
E. coli			
DSM 1103	17	7	20
E. coli			
W 3110	10	20	20
R 6 K			

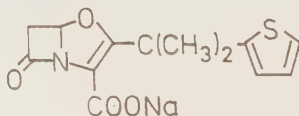
Tab. 6: Test des 3-hydroxymethylierten Azetidinon-N-sulfon-säuresalzes 80 auf antibakterielle und β -lactamase-inhibierende Aktivitäten; aufgetragen wurden jeweils 30 μ l 0,5Gew% Lösungen der Substanzen in DMSO

Zusammenfassend konnte man festhalten, daß eine polare Hydroxymethylgruppe in der 3-Position die antibakteriellen Eigenschaften der Testsubstanz positiv beeinflusste. Die Wirkung beschränkte sich allerdings weitgehend auf gramnegative Keime. Eine Inhibitorwirkung konnte aufgrund der geringen Differenzen zwischen den Hemmhofdurchmessern der Kombinations- und Einzelproben nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden.

6. Abschließende Bemerkungen

Im Verlaufe der Arbeit wurden sechs Oxapenemcarbon-säuresalze synthetisiert und auf ihre antibakterielle Aktivität geprüft. Es konnte erstmals gezeigt werden, daß auch Stoffe mit relativ großen Resten antibakteriell wirksam sind. Dies steht im Gegensatz zu Aussagen von Gorman und Morin¹¹⁴ über wirksame Substituenten bei der struk-turverwandten Clavulansäure.

Mit der Thienylverbindung 57a wurde das bisher stabilste 6-unsubstituierte Oxapenem erhalten.



57a

Trotz des relativ großen Substituenten in der 3-Position blieb die biologische Aktivität von 57a voll erhalten.

Mittlerweile zeigen viele hergestellte Stoffe, daß die Klasse neuer, hochwirksamer Oxapenemcarbonsäuren größer ist, als ursprünglich angenommen wurde.

Desweiteren wurden zwei neue Azetidinon-N-sulfonsäuren synthetisiert und biologisch untersucht. Die Ergebnisse der Bakterientests zeigen aber, daß sie antibiotisch uninteressant sind.

EXPERIMENTELLER TEIL

7. Allgemeines

7.1. Physikalische Meßgeräte

^1H -NMR-Spektren

WP 80 CW (Hersteller Bruker)

^1H -NMR-Spektren der hergestellten Verbindungen wurden in der Regel in CDCl_3 oder CCl_4 aufgenommen. Für schlechter lösliche oder empfindliche Substanzen dienten CD_3CN oder d_6 -DMSO als Lösungsmittel.

Tetramethylsilan (TMS) wurde als interner Standard ($\delta = 0 \text{ ppm}$) verwendet.

Die Spektren der Oxapenemcarbonsäuresalze, sowie der Azetidinonsulfonsäuresalze wurden in D_2O unter Verwendung von t-Butanol als internem Standard ($\delta = 1,22$) aufgenommen.

Die Auswertung der Spektren erfolgte nach erster Ordnung.

IR-Spektren

IR-Spektrometer der Firma Perkin-Elmer Modell 125 und Infracord 157 sowie Bruker Fourier -IR-Spektrometer IFS 45.

Die Angabe der Banden erfolgte nach fallenden Wellenzahlen (cm^{-1}) mit den folgenden Bedeutungen : s = stark, m = mittel und w = schwach.

Alle Spektren wurden, wenn nicht anders vermerkt, in Methylenchlorid als Lösungsmittel aufgenommen.

UV-Spektren

Spektralphotometer DMR 10 der Firma Carl Zeiss.

Kinetische Messungen wurden mit dem UV/Vis Spektrometer Lambda 3 (Hersteller Perkin-Elmer) in Verbindung mit den Schreibern R 100 A (gleichfalls Perkin-Elmer) und Varian Modell 9176 zur Aufzeichnung der Meßkurven durchgeführt.

Massenspektren

Massenspektrometer MS 902 (Hersteller AEI, Manchester)

Schmelzpunkte

Büchi SMP-20

Schmelz- und Siedepunkte sind nicht korrigiert.

7.2. Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel wurden nach Routineverfahren gereinigt und getrocknet. Methylenchlorid, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol wurden über Molekularsieb aufbewahrt und vor Gebrauch über basisches Aluminiumoxid filtriert. THF wurde zur Trocknung über Lithiumaluminiumhydrid am Rückfluß gekocht und frisch destilliert. DMF wurde über Molekularsieb gelagert und jeweils frisch destilliert.

7.3. Herkunft der eingesetzten Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Fluka, Merck und Janssen bezogen. Für alle Reaktionen wurden Stickstoff oder Argon der Firma Linde als Schutzgas eingesetzt.

7.4. Präparative Methodik

Auf die Beschreibung von Standardapparaturen wird verzichtet. Spezielle Apparaturen waren nicht erforderlich.

Der Verlauf nahezu aller Reaktionen konnte dünnschichtchromatographisch verfolgt werden, wobei Edukte und Produkte anhand ihrer Anfärbung in einer Jodkammer oder ihrer Absorption im UV-Licht identifiziert wurden.

Cycloadditionen mit Chlorsulfonylisocyanat ließen sich IR-spektroskopisch verfolgen. Dazu wurden nach regelmäßigen Zeitabständen IR-Spektren von in Methylenchlorid verdünnten Proben des Reaktionsansatzes gegen Methylenchlorid als Referenz aufgenommen. Die Aufarbeitung begann nach vollständiger Abreaktion des eingesetzten Chlorsulfonylisocyanats, das an seiner IR-Bande bei 2235 cm^{-1} zu erkennen war.

7.5. Chromatographische Verfahren

Für die analytische Dünnschichtchromatographie dienten Kieselgel-Fertigplatten 60 F₂₅₄ (Schichtdicke 0,25 mm) der Firma Merck.

Die präparative Trennung und Reinigung größerer Substanzmengen erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60 der Korngröße 0,063 bis 0,200 mm (70 bis 230 mesh ASTM) der Firma Merck.

7.6. Kinetische Messungen

Die Messungen der Halbwertszeiten der Hydrolysegeschwindigkeiten aller synthetisierten Oxapenemcarbonsäuresalze wurden in Phosphatpufferlösungen definierten pH-Wertes in thermostatisierten 1cm - Quarzküvetten bei einer Temperatur von

37.0 ± 0.5°C durchgeführt.

Aus den aufgezeichneten Meßkurven der zeitlichen Abnahme der Extinktion des jeweiligen längstwelligsten Absorptionsmaximums der untersuchten Salze wurden nach Erreichen eines konstanten Endwerts der Extinktion die ersten 3 - 4 Halbwertszeiten graphisch ermittelt. Für die Auswertung der Kurven wurden die Gesetze für Reaktionen pseudoerster Ordnung zugrundegelegt.

Die Pufferlösungen wurden in einer Gesamtkonzentration von 67 mmol pro Liter an $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ und KH_2PO_4 hergestellt und enthielten 19.36 g (54 mmol) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ und 1,72 g (13 mmol) KH_2PO_4 auf einen Liter Wasser. Der exakte pH-Wert der Lösungen wurde mittels eines vorher geeichten pH-Meters zu 7,40 bestimmt.

7.7. Bakterielle Tests

7.7.1. Verwendete Materialien

Nährlösung

DIFCO Bacto Nutrient Agar dehydrated enthält pro Liter 3 g Bacto-Beef-Extrakt und 5 g Bacto-Pepton.

Agar

DIFCO Bacto Nutrient Agar dehydrated enthält pro Liter
3 g Bacto-Beef-Extrakt, 5 g Bacto-Pepton und 15 g
Bacto-Agar.

Bakterien

Escherichia coli DSM 1103

Escherichia coli W 3110 R 6 K, produziert TEM 1 - β -Lactamase

Staphylococcus aureus DSM 1104

Staphylococcus aureus 23824, produziert β -Lactamase

Staphylococcus aureus 012484/77, produziert β -Lactamase

Pseudomonas aeruginosa DSM 1117

7.7.2. Durchführung der bakteriellen Tests

Für die Durchführung der Tests wurden originalverpackte Petrischalen und bei 170°C sterilisierte Geräte verwendet.

Die Anzucht der Bakterien erfolgte durch Bebrüten bei 37°C im Trockenschrank. Die Agarplatten wurden unter keimfreien Bedingungen nach Vorschrift hergestellt, angeimpft und die zu untersuchenden Substanzen mittels steriler, sehr

saugfähiger Filzplättchen aufgebracht. Als Vergleich dienten im Falle der Azetidinonsulfonsäuren jeweils 30 μ l 0,5Gew%iger Lösungen von Penicillin G in trockenem DMSO und im Falle der Oxapenemcarbonsäuresalze Lösungen von Penicillin V bzw Penem-2-carbonsäure in trockenem DMSO mit den Testsubstanzlösungen entsprechenden Gesamtgehalten an Antibiotika. Der Gehalt der Oxapenemcarbonsäuresalzlösungen wurde kurz vor dem Test anhand der gemessenen Extinktion am Absorptionsmaximum mithilfe eines Literaturwertes von $\epsilon = 5800$ ermittelt.

Nach Bebrüten der Testplatten im Trockenschrank bei 37°C über Nacht wurden die biologischen Aktivitäten anhand der gemessenen Hemmhofdurchmesser bestimmt.

8. Synthesen wichtiger Ausgangsmaterialien

8.1. Bromessigsäure-p-nitrobenzylester⁷⁵

In einer Umlaufapparatur wurden 18,4 g (0,12 mol) p-Nitrobenzylalkohol, 25,0 g (0,18 mol) Bromessigsäure und 2,9 g (0,017 mol) p-Toluolsulfonsäure in 150 ml Benzol unter Rückfluß gekocht. Das Benzol/Wasser-Azeotrop wurde abdestilliert und durch frisches Benzol ersetzt, bis nur noch klares Benzol destillierte und der vollständige Ablauf

der Reaktion im Dünnschichtchromatogramm erkennbar war.

Die gelbbraune Lösung wurde dreimal mit jeweils 70 ml 2 n Natronlauge und zweimal mit jeweils 70 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat und Abdampfen des Benzols am Rotationsverdampfer wurde der orange Rückstand aus 100 ml Ethanol umkristallisiert. Eintägiges Trocknen der Substanz im Hochvakuum bei Raumtemperatur ergab 26,8 g (81%) schwachgelber Kristalle vom Schmelzpunkt 49-50°C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 3,88 (s, 2 H, BrCH_2^-), 5,25 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,48 (d, $^3\text{J} = 9\text{Hz}$, 2 H, Ar-H), 8,05 (d, $^3\text{J} = 9\text{Hz}$, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2990 w (aliph. CH), 1740 s (Ester - C=O), 1610 w (C=C), 1530 s (NO_2), 1350 s (NO_2), 1150 m (C-O), 860 m, 845 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_9\text{H}_8\text{BrNO}_4$ (274,07)

Ber.: C 39,44 H 2,94 N 5,11

Gef.: C 39,68 H 2,99 N 5,19

DC : $R_f = 0,55$ (Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1)

8.2. Diazomethan

In einem 1l-Dreihalskolben, versehen mit Thermometer, Tropftrichter und Destillationsbrücke wurde eine Lösung von 20,0 g (356,4 mmol) KOH in 25 ml Wasser, 87 ml Diglyme und 25 ml Ether vorgelegt. Aus dem Tropftrichter wurde innerhalb einer Stunde eine Lösung von 54,0 g (0,25 mol) p-Toluolsulfonylmethylnitrosamid in 315 ml Ether zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionsmischung auf dem Wasserbad auf 70 - 75°C erwärmt und die etherische Diazomethanlösung kontinuierlich in den auf -25°C gekühlten Vorlagekolben destilliert. Anschließend wurden erneut 100 ml Ether nachgegeben und bis zur Farblosigkeit des Destillats überdestilliert. Die Diazomethanlösung wurde zur Reinigung von ausgefrorenem Wasser durch einen mit Watte gefüllten Trichter filtriert und bei -20°C im Tiefkühlfach aufbewahrt.

Die Titration ergab einen Gehalt von 1,0 mmol Diazomethan pro 4,1 ml Lösung und damit eine Gesamtmenge von 153,6 mmol (61%) Diazomethan.

8.3. Essigsäureisobutenylester (36)^{71,72}

72,1 g (1,0 mmol) Isobutyraldehyd, 153,0 g (1,5 mol) Essigsäureanhydrid und 50,0 g (0,6 mol) Natriumacetat wurden in einem 1l-Dreihalskolben mit Innenthermometer,

Intensivkühler und KPG-Rührer vorgelegt und 50 Stunden bei einer Ölbadtemperatur von 120°C am Rückfluß gekocht, wobei die Innentemperatur von anfänglich 90°C auf 116°C gegen Ende der Reaktion stieg. Die blaßgelbe Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur gekühlt in eine Lösung von 600 g Kaliumhydrogencarbonat in 11 Wasser gegossen und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abtrennen der organischen Phase, dreimaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit Essigsäureethylester, Trocknung der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat und Filtration vom Trockenmittel destillierte das Produkt im Wasserstrahlvakuum bei 20 Torr und 31 - 33°C als farblose Flüssigkeit über. Die Gesamtausbeute betrug 68,5 g (60%).

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,64 (s, 3 H, $-\text{CH}_3$), 1,67 (s, 3 H, $-\text{CH}_3$), 2,04 (s, 3 H, $-\text{OCH}_3$), 6,75 - 7,25 (m, 1 H, $\text{C}=\text{C-H}$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3020 w (olef. CH), 2920 m (aliph. CH), 1740 s ($\text{C}=\text{O}$), 1690 m ($\text{C}=\text{C}$), 1440 m (CH Def.), 1380 s (CH Def.), 1210 s ($\text{C}-\text{O}$), 1110 s ($\text{C}-\text{O}$), 815 m.

9. Synthesen 3-substituierter 6,6-Dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester und -salze

9.1. 4-Acetoxy-3,3-dimethylazetidin-2-on (38)⁷³

In einem 100 ml-Dreihalskolben mit Innenthermometer und kühlbarem Tropftrichter wurden 50,0 ml (46,6 g, 0,400 mol) Isobutenylacetat vorgelegt und in einer Eis/Kochsalzmischung auf -10 bis -15°C abgekühlt. Unter kräftigem Rühren wurden 9,0 ml (14,7 g, 0,103 mol) Chlorsulfonylisocyanat aus dem, auf -30°C gekühlten Tropftrichter so zugetropft, daß die Innentemperatur zwischen -10 und -5°C lag. Nach beendeter Zugabe wurde die gelbe Reaktionslösung 2 Stunden im Kühlbad weitergerührt und anschließend 15 Stunden bei 0°C aufbewahrt. Um sich vom vollständigen Ablauf der Reaktion zu Überzeugen, wurde von einer Probe der Reaktionslösung ein IR-Spektrum angefertigt und auf ein Verschwinden der C=N Bande von Chlorsulfonylisocyanat untersucht.

Zur Aufarbeitung wurde die tiefgelbe Lösung auf -40°C gekühlt, zu einem gut gerührten Gemisch aus 100 g zerstoßenem Eis, 26 g Natriumhydrogencarbonat und 1,2 g Natriumsulfit getropft und 3 Stunden bei -5 bis -10°C gerührt. Die wäßrige Phase wurde im Scheidetrichter von der oberen organischen Phase abgetrennt und fünfmal mit jeweils 50 ml

Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und vom Trockenmittel abfiltriert. Die nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltenen 4,51 g Rohprodukt wurden mit 100 g Kieselgel und Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1 als Elutionsmittel gereinigt um 3,72 g (23%) gelbliches Öl zu erhalten, das rasch auskristallisierte.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,23 (s, 3 H, 3-CH_3), 1,34 (s, 3 H, 3-CH_3), 2,10 (s, 3 H, $-\text{OCH}_3$), 5,45 (s, 1 H, 4-H), 6,51 - 6,90 (s - breit, 1 H, N-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3350 m (NH), 2940 m (aliph. CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1730 s (Ester - C=O), 1460 m (CH Def.), 1380 s (CH_3 Def.), 1230 s (C-O), 1145 m, 1125 s, 980 s, 910 w, 869 w.

Elementaranalyse : $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_3$ (157,17)

Ber.: C 53,49 H 7,05 N 8,91

Gef.: C 53,00 H 7,12 N 8,79

DC : R_f = 0,19 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

9.2. 4-t-Butylthio-3,3-dimethylazetidin-2-on (39)⁶⁵

20,6 ml (20,9 g, 137 mmol) DBU wurden zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von 19,7 g (125 mmol) 38 und 15,6 ml (12,4 g, 137 mmol) t-Butylmercaptan in 100 ml trockenem THF so zugetropft, daß eine Reaktionstemperatur von 0°C nicht überschritten wurde. Nach 2 Stunden wurde das Kühlbad entfernt und die Reaktionslösung 15 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Gemisch in 500 ml Methylenchlorid aufgenommen und viermal mit jeweils 100 ml 2 n Salzsäure, sowie zweimal mit jeweils 100 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung und 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Trocknung der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Filtration und Abdestillieren des Lösungsmittels lieferten einen blaßgelben, festen Rückstand, der über 400 g Kieselgel mit einem 4 : 1 Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester chromatographisch gereinigt wurde.

Die Umkristallisation aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch ergab 13,48 g (59%) analysenreines Produkt mit einem Schmelzpunkt von 123 - 124°C.

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1,22 (s, 3 H, 3-CH₃), 1,36 (s, 12 H, 3-CH₃ und t-Butyl), 4,50 (s, 1 H, 4-H), 6,35 (s - breit, 1 H, N-H).

IR in CH₂Cl₂ (cm⁻¹) : 3405 m (NH), 2965 m, 2895 w und 2860 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1460 m

(CH Def.), 1390 m und 1370 m (t-Butyl), 1340 w, 1200 m, 1155 m, 1115 w, 985 w, 950 m.

Elementaranalyse : $C_9H_{17}NOS$ (187,31)

Ber.: C 57,71 H 9,15 N 7,48 S 17,12

Gef.: C 57,99 H 9,23 N 7,46 S 17,18

DC : $R_f = 0,27$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

9.3. (4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-azetidinyl)essigsäure-p-nitrobenzylester (40)

Zu einer Lösung von 937 mg (5.00 mmol) 39 in 4 ml trockenem DMF in einem 50 ml-Schlenkkolben mit Septum wurden 6 ml absolutes THF gegeben, die Mischung auf $-45^{\circ}C$ gekühlt, zügig mit 5,80 ml einer 0,96 m Lösung von Lithiumbistrimethylsilylamid in THF (5,57 mmol) versetzt und nach beendeter Zugabe auf $-78^{\circ}C$ gekühlt. Zu der rotbraunen Lösung wurde unter kräftigem Rühren eine Lösung von 1,37 g (5,00 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 2 ml trockenem DMF und 5 ml absolutem THF getropft, die Reaktions-temperatur auf $-50^{\circ}C$ angehoben und weitere 15 Minuten gerührt.

Nach Ablauf der Reaktionsdauer wurde das Gemisch zur Aufarbeitung mit 100 ml Toluol verdünnt und nacheinander

mit 50 ml 0,01 n Essigsäure, 50 ml Wasser und 50 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die gesamten wäßrigen Phasen wurden zweimal mit jeweils 50 ml Toluol extrahiert, die vereinigten Toluolphasen erneut mit 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und vom Trockenmittel abfiltriert. Das Filtrat wurde im Wasserstrahlvakuum eingedampft und der schwachgelbe feste Rückstand durch eine Säulenchromatographie mit 19 g Kieselgel und einer 1 : 1 Mischung aus Toluol und Essigsäureethylester als Fließmittel gereinigt. Eintägiges Trocknen im Hochvakuum lieferte 1,89 g (83%) farbloses kristallines Material vom Schmelzpunkt 142 - 144°C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,22 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,28 (s, 9 H, t-Butyl), 1,40 (s, 3 H, 3'- CH_3), 3,73 (d, ^2J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,46 (d, ^2J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,58 (s, 1 H, 4'-H), 5,18 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,48 (d, ^3J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,16 (d, ^3J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2910 w (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1610 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1460 w und 1400 w (CH Def.), 1370 w (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1180 m (C-O), 1130 w, 1105 w, 935 w, 850 w (CH oop).

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ (380,46)

Ber.: C 56,82 H 6,36 N 7,36 S 8,43

Gef.: C 56,57 H 6,16 N 7,61 S 8,46

DC : $R_f = 0,43$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.4. 2-Methyl-2-phenylpropionsäureethylester (32 b)⁷⁰

In einem 1l-Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Gasblasenzähler und 2 Tropftrichtern wurde eine Suspension von 18,4 g (400 mmol) 55%iger Natriumhydriddispersion in Mineralöl in 300 ml trockenem DMF bei 10°C vorgelegt. Zu dieser kräftig gerührten Mischung wurden während 1 Stunde gleichzeitig 24,7 ml (56,4 g, 400 mmol) Methyljodid und eine Lösung von 15,9 ml (16,4 g, 100 mmol) Phenylessigsäureethylester in 15 ml trockenem DMF zugetropft, wobei der Reaktionsverlauf an der Gasentwicklung abgelesen werden konnte. 30 Minuten nach dem Ende der Zutropfdauer wurde das Kühlbad entfernt, die beige Suspension auf Raumtemperatur erwärmt und zur Vervollständigung der Reaktion 14 Stunden weitergerührt.

Zur Aufarbeitung wurde der Kolbeninhalt langsam in eine gut gerührte Mischung aus 200 g zerstoßenem Eis und 300 ml 2 n Salzsäure gegossen und nach beendeter Gasentwicklung viermal mit jeweils 200 ml Ether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden mit 200 ml Wasser und 200 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und vom Trockenmittel abfiltriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt und der gelbe ölige Rückstand einer Destillation im Ölpumpenvakuum bei 130 -

140°C Badtemperatur unterworfen, wonach man 14,2 g (74%) farblose Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von 100 - 104°C bei 10 Torr erhielt.

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1,18 (t, ³J = 7 Hz, 3 H, -CH₂-CH₃), 1,58 (s, 6 H, -C(CH₃)₂), 4,10 (q, ³J = 7 Hz, 2 H, -O-CH₂-), 7,30 (s, 5 H, -C₆H₅).

IR in CH₂Cl₂ (cm⁻¹) : 2950 m (aliph. CH), 1745 s (C=O), 1615 w und 1500 m (C=C), 1470 m und 1460 m (CH Def.), 1390 m und 1375 m (CH₃ Def.), 1280 m, 1230 m, 1150 s (C-O), 1110 s, 1085 m, 1030 s, 950 w, 865 m (CH oop).

Elementaranalyse : C₁₂H₁₆O₂ (192,26)

Ber.: C 74,97 H 8,39

Gef.: C 75,37 H 8,44

Massenspektrum (70 eV, 80 - 90°C) : m/e = 192 M⁺, 178 (-CH₂), 164 (-CO), 147 (-C₂H₅O), 132 (-C₂H₅O, -CH₃), 119 (C₉H₁₁⁺), 105 (C₈H₈⁺, +H⁺), 104 (C₈H₈⁺), 103 (C₈H₇⁺), 91 (C₇H₇⁺), 79, 78 (C₆H₆⁺), 77 (C₆H₅⁺), 65, 51, 41 (C₃H₅⁺), 39 (C₃H₃⁺).

DC : R_f = 0,60 (Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1)

9.5. 2-Methyl-2-phenylpropionsäure (33 b)⁷⁰

Ein zweiphasiges Gemisch aus 9,8 g (51 mmol) 32 b und 100 ml Wasser wurde in einem 250 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler mit 5,1 g (128 mmol) Natriumhydroxidplättchen versetzt und nach einer 1 Stunde Rückflußkochen auf Raumtemperatur abgekühlt. Die klare Reaktionslösung wurde zweimal mit jeweils 20 ml Toluol gewaschen, die organischen Phasen verworfen, die wäßrige Phase mit 2 n Salzsäure auf pH 1 - 2 eingestellt und viermal mit jeweils 75 ml Methylenchlorid extrahiert. Nach dem zweimaligen Waschen der vereinigten Methylenchloridphasen mit jeweils 100 ml gesättigter Kochsalzlösung wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und vom Trockenmittel abfiltriert. Das im Wasserstrahlvakuum bis zur Trockne eingedampfte Filtrat konnte aus 80 ml Wasser umkristallisiert werden und lieferte 8,0 g (96%) farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 75 - 77°C.

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1,60 (s, 6 H, -C(CH₃)₂), 7,34 (s, 5 H, -C₆H₅), 11,28 (s - breit, 1 H, -COOH).

IR in CH₂Cl₂ (cm⁻¹) : 3300 - 2500 m (COOH und aliph. CH), 1710 s (Carbons. - C=O), 1610 w und 1500 w (C=C), 1475 w (CH Def.), 1260 w, 1180 w, 1120 w, 1100 w, 1030 w, 950 w, 850 w (CH oop).

Elementaranalyse : $C_{10}H_{12}O_2$ (164,20)

Ber.: C 73,15 H 7,36

Gef.: C 72,71 H 7,34

9.6. 2-Methyl-2-phenylpropionsäurechlorid (34 b)⁷⁰

7,2 g (43,8 mmol) 33 b wurden in einem 100 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler, Gasblasenzähler und Gasableitungsschlauch unter kräftigem Rühren mit 14,0 ml (52,3 g, 440,0 mmol) Thionylchlorid versetzt, 30 Minuten rückflußgekocht und auf Raumtemperatur gebracht. Der Rückflußkühler wurde durch eine Destillationsbrücke ersetzt und das Reaktionsgemisch im Ölpumpenvakuum bei einer Badtemperatur von 60 - 80°C destilliert, wobei überschüssiges Thionylchlorid in die nachgeschaltete Kühlfalle kondensierte.

Die Produktfraktion destillierte von 42 - 44°C bei einem Druck von 1 Torr über und lieferte 7,3 g (91%) wasserklare Flüssigkeit von stechendem Geruch.

1H -NMR ($CDCl_3$) : δ = 1,70 (s, 6 H, $-C(CH_3)_2$), 7,35 (s, 5 H, $-C_6H_5$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 w (aliph. CH), 1800 s (C=O), 1610 w und 1515 m (C=C), 1470 w und 1430 w (CH Def.), 1395 w und 1380 w (CH_3 Def.), 1200 w, 1160 w, 1110 w, 1090 w, 1040 w, 960 s, 930 w, 915 w, 885 s.

Elementaranalyse : $C_{10}H_{11}ClO$ (182,65)

Ber.: C 65,76 H 6,07

Gef.: C 65,73 H 6,20

Massenspektrum (70 eV, 80 - 90°C) : $m/e = 184$ und $182 M^+$,
170 und 168 ($-CH_2$), 147 ($-Cl$), 132 ($-CH_3Cl$), 119 ($-CO$,
 $-Cl$), 139 und 141 ($-CO$, $-CH_3$), 105 ($C_8H_8^+$, $+H^+$), 104
($C_8H_8^+$), 103 ($C_8H_7^+$), 91 ($C_7H_7^+$), 79, 78 ($C_6H_5^+$, $+H^+$), 77
($C_6H_5^+$), 65, 63, 51, 41 ($C_3H_5^+$), 39 ($C_3H_3^+$).

DC : $R_f = 0,66$ (Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1)

9.7. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitrobenzyl-
ester (41 b)

Eine Lösung von 380 mg (1,00 mmol) 40 in 10 ml absolutem THF wurde in einem 25 ml-Schlenkkolben mit Septum auf $-78^\circ C$ gekühlt und unter kräftigem Rühren nacheinander mit einer Lösung von 183 mg (1,00 mmol) 34 b in 1 ml THF, sowie 2 ml einer 1 m Lösung von Lithiumbistrimethylsilylamid (2,00 mmol) in THF versetzt. Die dunkelrote Reaktionslösung wurde 40 Minuten intensiv bei $-78^\circ C$ gerührt.

Nach beendeter Reaktionszeit wurde der Kolbeninhalt in 100 ml Toluol gegossen und die hellbraune Lösung zweimal mit 50 ml 0,01 n Essigsäure, sowie 50 ml Wasser und 50 ml

gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die gesammelten wäßrigen Phasen wurden mit 100 ml Toluol extrahiert, die organischen Phasen vereinigt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Die vom Trockenmittel abfiltrierte Toluolphase wurde am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und lieferte nach mehrstündiger Trocknung im Hochvakuum bei einer Badtemperatur von 30°C 516 mg (98%) analysenreines ocker-gelbes Harz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,13 - 1,40 (m, 15 H, 3'-(CH_3)₂ und t-Butyl), 1,55 - 1,73 (m, 6 H, 4-(CH_3)₂), 4,85 und 4,98 (2s, 1 H, 4'-H), 5,08 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,15 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,23 und 5,30 (2s, 1 H, 2-H), 7,23 - 7,40 (m, 7 H, - C_6H_5 und - $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,20 (d, 3J = 9 Hz, 2 H, - $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2930 w (aliph. CH), 1775 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1720 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1395 m und 1375 m (CH_3 Def.), 1355 s (NO_2), 1325 m, 1220 m, 1195 m, 1145 m, 1110 w, 1010 w, 950 w, 915 w, 855 w (CH oop).

Elementaranalyse : $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (526,65)

Ber.: C 63,86 H 6,51 N 5,32 S 6,09

Gef.: C 63,66 H 6,52 N 5,12 S 5,91

DC : R_f = 0,53 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.8. 2-(4-Chloro-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitro-
benzylester (42 b)

263 mg (0,50 mmol) 41 b wurden in einem 25 ml-Schlenk-
kolben mit Septum in 10 ml trockenem Methylenchlorid gelöst
und unter Argon auf -78°C gekühlt. Durch das Septum wurden
1,60 ml einer Lösung von 790 mg Chlor in 10 ml trockenem
Tetrachlorkohlenstoff (1,78 mmol) zugespritzt und die gelbe
Reaktionslösung 35 Minuten bei -78°C gerührt. Nach beendeter
Reaktionsdauer wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlva-
kuum bei 0°C Badtemperatur abgezogen, der Rückstand erneut
in wenig trockenem Methylenchlorid aufgenommen, eingedampft
und im Hochvakuum von Lösungsmittelresten befreit, wonach
258 mg (98%) hellgelbes Schaumharz zurückblieben.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,28 - 1,45 (m, 6 H, 3'-(CH_3)₂), 1,55
- 1,78 (m, 6 H, 4-(CH_3)₂), 5,00 (d, ^2J = 14 Hz, 1 H,
-O- CH_2 -Ar), 5,20 (d, ^2J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 7,28 (s,
5 H, - C_6H_5), 7,48 (d, ^3J = 9 Hz, 2 H, - $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,18 (d,
 ^3J = 9 Hz, 2 H, - $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1790 s (β -Lactam
- C=O), 1755 s (Ester - C=O), 1725 m (Carbonyl - C=O),
1610 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1395 w und
1375 w (CH_3 Def.), 1355 s (NO_2), 1220 w, 1195 w, 1150 w,
1110 w, 1040 w, 1000 w, 855 w (CH oop).

DC : $R_f = 0,58$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.9. 6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (43 b)

Zu einer bei -45°C gerührten Lösung von 218 mg (0,46 mmol) 42 b in 20 ml absolutem THF wurden in einem mit Septum versehenen 25 ml-Schlenkkolben 1,04 ml einer 0,48 m Lösung von Kalium-t-butylat in t-Butanol (0,50 mmol) gespritzt. Die rasch einsetzende Farbvertiefung führte nach 25 Minuten Reaktionsdauer zu einer intensiv rotbraun gefärbten Lösung, die nach Verdünnung mit 100 ml Benzol nach dunkelgelb aufhellte. Die benzolische Lösung wurde nacheinander mit 50 ml gesättigter Kochsalzlösung, 50 ml Wasser und erneut 50 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Nach dem Eindampfen des Filtrats im Wasserstrahlvakuum und einer kurzen Trocknung im Hochvakuum wurden 193 mg Rohprodukt für eine weitere Reinigung an einer Säule mit 2 g Kieslgel erhalten.

Die Chromatographie lieferte unter Verwendung eines 19 : 1 Gemisches aus Benzol und Essigsäureethylester als Elutionsmittel 147 mg (73%) schwachgelbes Harz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : $\delta = 1,38$ (s, 3 H, 6- CH_3), 1,50 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,65 (s, 6 H, 3- $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 5,00 (d, $^2J = 14$ Hz, 1 H,

$-O-CH_2-Ar$, 5,15 (d, $^2J = 14$ Hz, 1 H, $-O-CH_2-Ar$), 5,63 (s, 1 H, 5-H), 7,25 (s, 5 H, $-C_6H_5$), 7,38 (d, $^3J = 14$ Hz, 2 H, $-C_6H_4NO_2$), 8,13 (d, $^3J = 14$ Hz, 2 H, $-C_6H_4NO_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}): 2950 w (aliph. CH), 1810 s (β -Lactam - C=O), 1725 s (Ester - C=O), 1600 m (C=C), 1540 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1380 w (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1325 s, 1260 m, 1180 m, 1150 m, 1090 s (C-O), 1080 s, 1030 m, 910 w, 855 w (CH oop).

Elementaranalyse : $C_{24}H_{24}N_2O_6$ (436,46)

Ber.: C 66,04 H 5,54 N 6,42

Gef.: C 65,73 H 5,37 N 6,25

DC : $R_f = 0,60$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.10. 6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (44 b)

Ein zweiphasiges Gemisch aus 1,50 ml Essigsäureethylester und 1,00 ml 0,05 m Natriumhydrogencarbonatlösung (50 μ mol) wurde in einem 10 ml-Hydrierkolben mit Septum mit 36 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) versetzt und während 30 Minuten vorhydriert. Anschließend wurde durch das Septum eine Lösung von 12 mg (27 μ mol) 43 b in 1,00 ml Essigsäure-

ethylester zugespritzt. Die Wasserstoffaufnahme war nach 50 Minuten beendet und betrug 2,8 ml (theoretischer Verbrauch : 2,5 ml = 4 Äq.). Das Zweiphasengemisch wurde über Hyflo Super Cel vom Katalysator abfiltriert, dieser mit 1 ml Essigsäureethylester und zweimal mit 1 ml Wasser nachgewaschen und die Phasen voneinander getrennt. Die organische Phase wurde verworfen, die wäßrige Salzlösung zweimal mit 1 ml Essigsäureethylester gewaschen und im Hochvakuum von Resten des organischen Lösungsmittels befreit.

Zur Ausbeutebestimmung wurde eine 30 µl Probe der Salzlösung in einer Quarzküvette mit 3 ml Wasser verdünnt und ihre Extinktion am längstwelligen Absorptionsmaximum zu $E = 0,325$ gemessen, woraus sich eine Produktmenge von 5,4 mg (62%) errechnete. Die Lyophilisierung der Salzlösung im Hochvakuum lieferte 6,3 mg (72%) schwachgrauen flockigen Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : $\delta = 1,23$ (s, 3 H, 6- CH_3), 1,33 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,53 (s, 6 H, 3- $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 5,35 (s, 1 H, 5-H), 7,33 (s, 5 H, $-\text{C}_6\text{H}_5$).

IR in KBr (cm^{-1}) : 2972 m und 2932 m (aliph. CH), 1778 s (β -Lactam - C=O), 1601 s (Carboxylat - C=O), 1496 m, 1463 m und 1447 m (CH Def.), 1388 s (Carboxylat - C=O), 1306 m, 1263 m (=C-O-C), 1187 w, 1130 w, 1101 w, 1070 m, 1031 m, 997 m, 860 w, 835 w, 800 w, 770 w, 701 m.

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

9.11. Thiophenessigsäuremethylester (31 a)

In einem 500 ml-Dreihalskolben mit Innenthermometer, kühlbarem Tropftrichter und Gasblasenzähler wurde eine Lösung von 5,00 g (35,2 mmol) Thiophenessigsäure in 50 ml Ether vorgelegt und bei 0°C gerührt. Zur Eduktlösung wurden 147 ml einer auf 0°C gekühlten 0,244 molaren etherischen Diazomethanlösung (35,8 mmol) langsam zugetropft, wonach keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Das Reaktionsgemisch wurde im Wasserstrahlvakuum von überschüssigem Diazomethan und vom Lösungsmittel befreit und der gelbe ölige Rückstand an einer Säule über 200 g Kieselgel gereinigt, wobei ein 1 : 1 Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester als Elutionsmittel diente.

Man erhielt 5,06 g (92%) farblose Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von 55 - 59°C bei 1 Torr.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : $\delta = 3,63$ (s, 2 H, $-\text{CH}_2-$), 3,73 (s, 3 H, $-\text{CH}_3$), 6,74 - 6,84 (m, 2 H, 3 und 4-H), 6,97 - 7,05 (m, 1 H, 5-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3050 w (olef. CH), 2950 w (aliph. CH), 1740 s (C=O), 1420 m (CH Def.), 1335 m, 1295 m, 1220 s (C-O), 1180 s, 1020 m, 855 m (CH oop), 830 m.

Elementaranalyse : $C_7H_8O_2S$ (156,20)

Ber.: C 53,83 H 5,16 S 20,52

Gef.: C 54,12 H 5,21 S 20,61

DC : $R_f = 0,61$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

9.12. 2-Methyl-2-(2-thienyl)propionsäuremethylester (32 a)

Zu einer bei 10°C gerührten Vorlage von 100 ml trockenem DMF und 5,60 g einer 50%igen Natriumhydridsuspension in Mineralöl (117,3 mmol) in einem 500 ml-Dreihalskolben mit Gasblasenzähler, zwei Tropftrichtern und KPG-Rührer wurden gleichzeitig 17,20 g (7,6 ml, 121,2 mmol) Methyljodid und eine Lösung von 4,78 g (30,6 mmol) 31 a in 10 ml trockenem DMF während 45 Minuten getropft, wobei der Gasblasenzähler den Reaktionsverlauf anzeigte. 30 Minuten nach beendeter Zugabe wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 15 Stunden weitergerührt.

Die hellbeige Reaktionslösung wurde zur Aufarbeitung langsam in ein kräftig gerührtes Gemisch aus 150 g zerstoßenem Eis und 150 ml 1 n Salzsäure gegossen und dreimal mit jeweils 200 ml Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 100 ml Wasser und 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Wasserstrahlvakuum vom Lösungsmit-

tel befreit. Eine fraktionierte Destillation im Ölpumpenvakuum lieferte bei 59 - 60°C und 1 Torr 4,18 g (74%) farblose Flüssigkeit.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,66 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 3,88 (s, 3 H, $-\text{CH}_3$), 6,81 - 6,91 (m, 2 H, 3 und 4-H), 7,05 - 7,15 (m, 1 H, 5-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1740 s ($\text{C}=\text{O}$), 1475 m (CH Def.), 1390 w und 1370 w (CH_3 Def.), 1240 w, 1200 w, 1160 s ($\text{C}-\text{O}$), 1095 w, 1070 w, 1050 w, 1020 w, 990 w, 860 m (CH oop), 835 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}$ (184,25)

Ber.: C 58,67 H 6,56 S 17,40

Gef.: C 58,89 H 6,57 S 17,36

DC : R_f = 0,69 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

9.13. 2-Methyl-2-(2-thienyl)propionsäure (33 a)

In einem 100 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler wurde eine Emulsion von 2,64 g (14,3 mmol) 32 a in 50 ml 2 n Natronlauge 20 Minuten bei 120 - 130°C Badtemperatur rückflußgekocht und dann auf Raumtemperatur gebracht. Das Reak-

tionsgemisch wurde zweimal mit jeweils 10 ml Toluol gewaschen, die organischen Phasen verworfen, die wäßrige Phase mit 2 n Salzsäure auf pH 5 - 6 eingestellt und dreimal mit jeweils 100 ml Toluol extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit 100 ml Wasser und 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Filtrat wurde im Wasserstrahlvakuum eingedampft und ergab nach Trocknung im Hochvakuum 2,34 g (96%) farbloses Pulver vom Schmelzpunkt von 77 - 78°C, das ohne weitere Reinigung verwendet werden konnte.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,66 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 6,85 - 6,95 (m, 2 H, 3 und 4-H), 7,12 - 7,22 (m, 1 H, 5-H), 8,70 (s - breit, $-\text{COOH}$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3300 - 2500 m (COOH , olef. und aliph. CH), 1705 s (Carbons. - $\text{C}=\text{O}$), 1605 w und 1500 w ($\text{C}=\text{C}$), 1470 w (CH Def.), 1370 w (CH_3 Def.), 1280 m, 1175 m, 1120 m, 1090 w, 1070 w, 1040 w, 935 w ($\text{OH}\cdots\text{O}$ oop), 855 w, 830 w.

9.14. 2-Methyl-2-(2-thienyl)propionsäurechlorid (34 a)

Eine Lösung von 2,30 g (13,5 mmol) 33 a wurde bei 0°C in einem 50 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler, Gasblasenzähler und Gasableitungsschlauch unter kräftigem Rühren mit

7,95 g (13,0 ml, 66,8 mmol) Thionylchlorid versetzt. Das Eisbad wurde durch ein Ölbad ersetzt, die rötliche Reaktionslösung 20 Minuten bei 110 - 120°C Badtemperatur rückflußgekocht und anschließend auf Raumtemperatur gekühlt. Der Rückflußkühler wurde gegen eine Destillationsbrücke ausgetauscht und die nunmehr tiefrote Reaktionslösung im Ölpumpenvakuum bei 1 Torr destilliert, wobei überschüssiges Thionylchlorid in der nachgeschalteten Kühlfalle bei -78°C kondensierte. Die Produktfraktion destillierte bei 64 - 66°C und ergab 2,00 g (78%) farblose Flüssigkeit von stechendem Geruch.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 1,78 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 6,93 - 7,01 (m, 2 H, 3 und 4-H), 7,19 - 7,29 (m, 1 H, 5-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1800 s (C=O), 1610 w (C=C), 1475 w (CH Def.), 1400 w und 1380 w (CH_3 Def.), 1250 w, 1200 w, 1160 w, 1100 w, 1075 w, 1050 w, 1025 w, 952 s, 878 s, 853 m, 840 w.

Elementaranalyse : $\text{C}_8\text{H}_9\text{ClOS}$ (189,21)

Ber.: C 50,78 H 4,79 S 16,94

Gef.: C 51,26 H 4,76 S 16,96

DC : R_f = 0,63 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

9.15. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
4-methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p-nitro-
benzylester (41 a)

380 mg (1,00 mmol) 40 wurden in einem 25 ml-Schlenk-
kolben mit Septum in 8 ml absolutem THF gelöst und auf
-78°C gekühlt. Durch das Septum wurden nacheinander eine
Lösung von 189 mg (1,00 mmol) 34 a in 1 ml THF und 2,00 ml
einer 1 m Lösung von Lithiumbistrimethylsilylamid in THF
(2,00 mmol) zugespritzt und das dunkelrote Reaktionsgemisch
45 Minuten kräftig gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung in 150 ml
Toluol gegossen und nacheinander mit 100 ml 0,01 n Essig-
säure, 50 ml Wasser und 50 ml halbgesättigter Kochsalzlö-
sung gewaschen. Die vereinigten wäßrigen Phasen wurden er-
neut mit 50 ml Toluol extrahiert und die gesammelten orga-
nischen Phasen abschließend mit 100 ml gesättigter Koch-
salzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und
vom Trockenmittel abfiltriert. Das Filtrat wurde im Wasser-
strahlvakuum vollständig eingeeengt und lieferte nach mehr-
stündigem Trocknen im Hochvakuum bei einer Badtemperatur
von 30 - 35°C 520 mg (98%) analysenreines gelbes Harz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,19 - 1,29 (m, 15 H, t-Butyl und
3'-(CH_3)₂), 1,63 - 1,75 (m, 6 H, 4-(CH_3)₂), 4,80 und 4,94
(2s, 1 H, 4'-H), 5,00 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,21
und 5,25 (2s, 1 H, 2-H), 5,24 (d, 2J = 14 Hz, 1 H,

-O-CH₂-Ar), 6,88 - 6,98 (m, 2 H, 3 und 4 Thienyl-H), 7,25 (m, 3 H, 5 Thienyl-H und -C₆H₄NO₂), 8,14 (d, ³J = 9 Hz, 2 H, -C₆H₄NO₂).

IR in CH₂Cl₂ (cm⁻¹) : 2950 w (aliph. CH), 1775 s (β-Lactam - C=O), 1740 s (Ester - C=O), 1710 m (Carbonyl - C=O), 1615 w und 1510 w (C=C), 1540 s (NO₂), 1470 w (CH Def.), 1380 m und 1360 m (CH₃ Def.), 1350 s (NO₂), 1195 m (C-O), 1150 w, 1115 w, 1050 w, 1010 w, 855 m (CH oop), 840 w.

Elementaranalyse : C₂₆H₃₂N₂O₆S₂ (532,67)

Ber.: C 58,63 H 6,05 N 5,26 S 12,04

Gef.: C 58,42 H 6,01 N 5,06 S 12,08

DC : R_f = 0,60 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.16. 2-(4-Chloro-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
4-methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p-ni-
trobenzylester (42 a)

Eine Lösung von 532 mg (1,00 mmol) 41 a in 30 ml trockenem Methylenchlorid wurde in einem 50 ml-Schlenkkolben mit Septum unter Argon auf -78°C gekühlt, mit 1,10 ml einer Lösung von 705 mg Chlor in 10 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff (1,09 mmol) versetzt und 40 Minuten gerührt. Nach Ablauf der Reaktionsdauer wurde die hellgelbe Lösung im

Wasserstrahlvakuum bei 0°C Badtemperatur von Lösungsmittel befreit und der gelbe ölige Rückstand an einer Säule mit 3 g Kieselgel und einem 19 : 1 Gemisch aus Benzol und Essigsäureethylester als Elutionsmittel gereinigt. Die Trocknung der Produktfraktionen im Hochvakuum lieferte 445 mg (93%) gelbes Schaumharz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,24 - 1,45 (m, 6 H, $3'-(\text{CH}_3)_2$), 1,60 - 1,73 (m, 6 H, $4-(\text{CH}_3)_2$), 5,00 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,21 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,40 und 5,44 (2s, 1 H, 2-H), 5,49 und 5,60 (2s, 1 H, 4'-H), 6,85 - 6,98 (m, 2 H, 3 und 4 Thienyl-H), 7,15 - 7,25 (m, 1 H, 5 Thienyl-H), 7,35 (d, 3J = 14 Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,15 (d, 3J = 14 Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1800 s (β -Lactam - C=O), 1740 s (Ester - C=O), 1710 m (Carbonyl - C=O), 1610 m (C=C), 1540 s (NO_2), 1470 m (CH Def.), 1400 m und 1380 m (CH_3 Def.), 1360 s (NO_2), 1210 m (C-O), 1150 m, 1110 m, 1060 m, 1030 m, 1010 m, 940 w, 910 w, 855 m (CH oop), 840 m, 815 w.

DC : R_f = 0,63 (Toluol/Essigsäureethylester)

9.17. 6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (43 a)

Eine Lösung von 479 mg (1,00 mmol) 42 a in 50 ml absolutem THF wurde in einem 100 ml-Schlenkkolben mit Septum auf -50°C gekühlt und unter intensivem Rühren mit 1,60 ml einer frisch bereiteten 0,75 m Lösung von Kalium-t-butylat in t-Butanol (1,20 mmol) verستzt. Nach 30 Minuten Reaktionsdauer führte die anfänglich einsetzende Farbvertiefung zu einer intensiv dunkelrot gefärbten Lösung. Die Reaktionslösung wurde nach Verdünnen mit 100 ml Essigsäureethylester zweimal mit 50 ml 0,5 m Phosphatpufferlösung (pH 7), sowie 50 ml Wasser und 50 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtration vom Trockenmittel wurde die Lösung im Wasserstrahlvakuum vollständig eingedampft.

Eine Reinigung des Rückstandes an einer Säule mit 4 g Kieselgel und einer 19 : 1 Mischung aus Benzol und Essigsäureethylester als Fließmittel lieferte nach Trocknen der Produktfraktionen im Hochvakuum 290 mg (66%) schwachgelbes Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,31 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,48 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,71 (s, 3 H, 3-C(CH_3) $_2$), 1,78 (s, 3 H, 3-C(CH_3) $_2$), 5,00 (d, ^2J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,21 (d, ^2J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,63 (s, 1 H, 5-H), 6,76 - 6,89 (m, 2 H,

3 und 4 Thienyl-H), 7,06 - 7,19 (m, 1 H, 5 Thienyl-H), 7,44 (d, $^3J = 14$ Hz, 2 H, $-C_6H_4NO_2$), 8,11 (d, $^3J = 14$ Hz, 2 H, $-C_6H_4NO_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1800 s (β -Lactam - C=O), 1725 s (Ester - C=O), 1590 m (C=C), 1540 s (NO_2), 1450 w (CH Def.), 1380 w (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1310 m, 1250 m, 1170 w, 1140 w, 1075 s (=C-O-C), 1020 w, 850 w (CH oop), 825 w.

Elementaranalyse : $C_{22}H_{22}N_2O_6S$ (442,49)

Ber.: C 59,72 H 5,01 N 6,33 S 7,24

Gef.: C 60,02 H 5,36 N 6,23 S 7,24

DC : $R_f = 0,65$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.18. 6,6-Dimethyl-3-[(1-methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (44 a)

In einem 10 ml-Hydrierkolben mit Septum wurde eine Suspension von 58 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) in einer zweiphasigen Mischung aus 1 ml Essigsäureethylester und 1 ml 0,05 m wäßrigen Natriumhydrogencarbonatlösung (50 μ mol) auf 0°C gekühlt und 20 Minuten vorhydriert. Durch das Septum wurde eine Lösung von 25 mg (56 μ mol) 43 a in

1 ml Essigsäureethylester zugespritzt und weitere 45 Minuten hydriert, wonach 5,2 ml Wasserstoff verbraucht waren (theoretische Menge : 5.0 ml = 4 Äq) und die Suspension über Hyflo Super Cel vom Katalysator abfiltriert wurde. Um Produktreste vollständig auszuwaschen wurde der Katalysator mit 1 ml Essigsäureethylester und dreimal mit insgesamt 3 ml Wasser nachgespült. Die Phasen wurden voneinander getrennt; die wäßrige Phase zweimal mit jeweils 1 ml Essigsäureethylester gewaschen, erneut vom organischen Lösungsmittel abgetrennt und im Hochvakuum von Essigsäureethylesterresten befreit.

Eine 30 µl Probe der Salzlösung wurde in einer Quarzküvette mit 3 ml Wasser verdünnt und ihre Extinktion bei 260 nm zu $E = 0,423$ ermittelt, woraus sich eine Ausbeute von 9,6 mg (52%) errechnete. Nach der Lyophilisierung der Salzlösung im Hochvakuum blieben 10 mg (54%) schwachgelber Schaum zurück.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : $\delta = 1,43$ (s, 3 H, 6- CH_3), 1,58 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,88 (s, 6 H, 3-C(CH_3) $_2$), 5,73 (s, 1 H, 5-H), 7,10 - 7,21 (m, 2 H, 3 und 4 Thienyl-H), 7,38 - 7,47 (m, 1 H, 5 Thienyl-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 2975 w und 2927 w (aliph. CH), 1777 s (β -Lactam - C=O), 1685 s, 1637 s (COONa), 1385 s (COONa), 1339 s, 1240 w, 1180 w, 1130 w, 1080 w, 1000 w, 834 m (CH oop), 700 m.

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 235 \text{ nm}$ ($\epsilon = 12960$)
 $\lambda_{\text{Schulter}} = 260 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

9.19. Dimethylmalonsäuremonoethylester (46)⁸¹

15,05 g (80,0 mmol) Dimethylmalonsäurediethylester wurden in 180 ml 96%igem Ethanol gelöst und in einem 500 ml-Rundkolben mit Gasblasenzähler mit einer Lösung von 2,41 g (43,0 mmol) Kaliumhydroxid in 70 ml 96%igem Ethanol versetzt und 36 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wonach ein pH - Test keine alkalische Reaktion mehr zeigte. Der Alkohol wurde im Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der farblose ölige Rückstand in 200 ml Wasser aufgenommen, wobei sich 9,31 g unverseifter Ester abschieden, die einer erneuten Halbverseifung unterzogen werden konnten. Die wäßrige Phase wurde zweimal mit jeweils 75 ml Ether gewaschen, anschließend unter Eiskühlung mit 85%iger Phosphorsäure auf pH 2 - 3 eingestellt und fünfmal mit jeweils 100 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit.

Der wasserklare viskose Rückstand destillierte im Hochvakuum bei 0,05 Torr und 100 - 110°C Badtemperatur bei 77 - 80°C über und lieferte 4,05 g (83% bezogen auf 5,74 g verseiften Diester) zähflüssigen Monoethylester.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : $\delta = 1,28$ (t, $^3J = 7$ Hz, 3 H, $-\text{CH}_3$), $1,47$ (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), $4,20$ (q, $^3J = 7$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3400 - 2500 m (COOH und aliph. CH), 1730 s (Ester - C=O), 1700 m (Carbons. - C=O), 1600 w, 1470 m (CH Def.), 1390 m und 1370 m (CH_3 Def.), 1280 m (C-O), 1180 m, 1150 s, 1120 m, 1030 m ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}$), 955 w, 860 w, 820 w.

Elementaranalyse : $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_4$ (160,17)

Ber.: C 52,49 H 7,55

Gef.: C 52,87 H 7,70

9.20. Dimethylmalonsäuremonoethylestersäurechlorid (47)⁸¹

In einem 50 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler, Gasblasenzähler und Gasableitungsschlauch wurden unter kräftigem Rühren 3,84 g (24,0 mmol) 46 mit 28,55 g (17,5 ml, 240,0 mmol) Thionylchlorid versetzt und 50 Minuten rückflußgekocht. Die gelbe Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, der Rückflußkühler gegen eine Destillationsbrücke ausgetauscht und überschüssiges Thionylchlorid im Hochvakuum bei Raumtemperatur in die nachgeschaltete Kühlfalle kondensiert. Der ölige Rückstand destillierte im Hochvakuum bei 0,05 Torr und einer Badtemperatur von 85 - 100°C mit einem Siedepunkt von 67 - 69°C und ergab

3,75 g (88%) farblose Flüssigkeit.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,29 (t, ^3J = 7 Hz, 3 H, $-\text{CH}_3$), 1,54 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 4,23 (q, ^3J = 7 Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2890 m (aliph. CH), 1790 s (Säurechlorid - C=O), 1730 s (Ester - C=O), 1450 m (CH Def.), 1380 m und 1360 m (CH_3 Def.), 1280 m (C-O), 1150 s, 1110 m, 1095 m, 1030 s ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}$), 970 s, 910 s, 8,55 s, 845 s, 785 w.

Elementaranalyse : $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{ClO}_3$ (178,62)

Ber.: C 47,07 H 6,21

Gef.: C 47,24 H 6,18

DC : R_f = 0,60 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

9.21. 4-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyI)-
2,2-dimethyl-3-oxopentan-1,5-disäure-1-ethylester-
5-p-nitrobenzylester (48)

Eine Lösung von 370 mg (0,97 mmol) 40 in 8 ml absolutem THF wurde in einem mit Septum versehenen 25 ml-Schlenk-
kolben bei -78°C vorgelegt. Durch das Septum wurden nach-
einander 180 mg (1,00 mmol) 47 und 2,20 ml 1 m Lithiumbis-

trimethylsilylamidlösung in THF (2,20 mmol) zugespritzt. Die dunkelrote Reaktionslösung wurde 30 Minuten bei -78°C gerührt, dann in 100 ml Benzol gegossen und nacheinander mit einer Lösung von 10 Tropfen 2 n Essigsäure in 50 ml Wasser, 50 ml gesättigter Kochsalzlösung und 50 ml Wasser gewaschen. Die Benzolphase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit.

Der dunkelgelbe ölige Rückstand wurde nach kurzer Trocknung im Hochvakuum mit 15 g Kieselgel und einem 9 : 1 Fließmittelgemisch aus Benzol und Essigsäureethylester säulenchromatographisch gereinigt und lieferte 450 mg (89%) hellgelbes Harz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : $\delta = 1,10 - 1,58$ (m, 24 H, alle $-\text{CH}_3$), 4,10 (q, $^3\text{J} = 7$ Hz, 2 H, $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 4,78 und 4,89 (2s, 1 H, 4'-H), 5,14 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,33 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,49 und 5,99 (2s, 1 H, 4-H), 7,38 - 7,60 (m, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,15 (d, $^3\text{J} = 14\text{Hz}$, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1730 s (Ester - C=O), 1710 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1525 m (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1390 w und 1370 w (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1180 m, 1140 m, 1110 w, 1020 w, 855 w (CH oop), 820 w.

DC : $R_f = 0,53$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.22. 4-(4-Chloro-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny1)-2,2-dimethyl-3-oxopentan-1,5-disäure-1-ethylester-5-p-nitrobenzylester (49)

In einem 50 ml-Schlenkkolben mit Septum wurde eine bei -78°C gerührte Lösung von 360 mg (0,69 mmol) 48 in 25 ml trockenem Methylenchlorid mit 1,2 ml einer Lösung von 850 mg Chlor in 10 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff (102 mg, 1,44 mmol) versetzt und 30 Minuten gerührt. Nach Ablauf der Reaktionsdauer wurde die gelbe Reaktionsmischung am Rotationsverdampfer unter Eisbadkühlung vom Lösungsmittel befreit und der ölige Rückstand im Hochvakuum getrocknet, wonach 320 mg (93%) hellgelbes Schaumharz zurückblieben.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : $\delta = 1,03 - 1,58$ (m, 15 H, alle $-\text{CH}_3$), 4,08 (q, $^3J = 7$ Hz, 2 H, $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 5,25 - 5,33 (m, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,50 - 5,68 (m, 2 H, 4-H und 4'-H), 7,44 - 7,68 (m, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,16 (d, $^3J = 9$ Hz, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2900 w (aliph. CH), 1785 s (β -Lactam - C=O), 1730 s (Ester - C=O), 1710 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1520 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1370 w und 1390 w (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1240 w, 1180 m, 1150 m,

1110 w, 1115 w, 860 w (CH oop), 845 w.

DC : $R_f = 0,55$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.23. 6,6-Dimethyl-3-[(1-ethoxycarbonyl-1-methyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (50)

Eine Lösung von 300 mg (0,60 mmol) 49 in 15 ml absolutem THF wurde bei -45°C in einem 25 ml-Schlenkkolben mit Septum mit 1,3 ml einer 0,5 m Lösung von Kalium-t-butylat in t-Butanol (0,65 mmol) versetzt und 20 Minuten gerührt. Die rote Reaktionslösung wurde mit 100 ml Benzol verdünnt und nacheinander mit 50 ml gesättigter Kochsalzlösung, 50 ml Wasser und erneut 30 ml Kochsalzlösung gewaschen. Nach Abfiltration vom Trockenmittel Magnesiumsulfat wurde die organische Phase im Wasserstrahlvakuum vom Lösungsmittel befreit und der dunkelgelbe ölige Rückstand an einer Säule mit 2 g Kieselgel und einem 19 : 1 Fließmittelgemisch aus Benzol und Essigsäureethylester gereinigt. Die Trocknung der produkthaltigen Fraktionen im Hochvakuum lieferte 45 mg (16%) hellgelbes Öl, das auf der Dünnschichtchromatographieplatte deutliche Zersetzungsspuren zeigte.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : $\delta = 1,05$ (t, $^3J = 7$ Hz, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 1,30 (s, 3 H, $6'-\text{CH}_3$), 1,40 (s, 3 H, $6'-\text{CH}_3$), 1,44 (s, 6 H,

2-(CH₃)₂), 3,94 (q, ³J = 7 Hz, -O-CH₂-CH₃), 5,11 (d, ²J = 14 Hz, 1 H, -O-CH₂-Ar), 5,36 (d, ²J = 14 Hz, 1 H, -O-CH₂-Ar), 7,55 (d, ³J = 9 Hz, 2 H, -C₆H₄NO₂), 8,13 (d, ³J = 9 Hz, 2 H, -C₆H₄NO₂).

IR in CH₂Cl₂ (cm⁻¹) : 2900 w und 2850 w (aliph. CH), 1800 s (β-Lactam - C=O), 1740 s und 1710 s (Ester - C=O), 1600 m (C=C), 1520 m (NO₂), 1470 w (CH Def.), 1380 w (CH₃ Def.), 1350 s (NO₂), 1340 s, 1250 m, 1175 m, 1160 m, 1140 m, 1120 m, 1110 m, 1080 s, 1015 m, 860 w (CH oop), 830 w.

DC : R_f = 0,57 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

9.24. 6,6-Dimethyl-3-[(1-ethoxycarbonyl-1-methyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (51)

In einem 10 ml-Hydrierkolben mit Septum wurden 45 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) in einem zweiphasigen Gemisch aus 1 ml Essigsäureethylester und 1 ml 0,071 m wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung (71 µmol) 45 Minuten bei 0°C vorhydriert. Nach Einspritzen einer Lösung von 30 mg (65 µmol) 50 in 1 ml Essigsäureethylester wurde 45 Minuten bei 0°C hydriert, wonach 5,8 ml Wasserstoff verbraucht waren (theoretische Menge : 5,8 ml = 4 Äq).

Das Reaktionsgemisch wurde über Hyflo Soper Cel vom

Katalysator abfiltriert, dieser mit 1 ml Essigsäureethylester und 1 ml Wasser nachgewaschen und die Phasen voneinander getrennt. Die wäßrige Phase wurde dreimal mit insgesamt 5 ml Essigsäureethylester gewaschen und im Hochvakuum von Lösungsmittelresten befreit. Eine 30 µl Probe der Salzlösung wurde in einer Quarzküvette mit 3 ml Wasser verdünnt und ihre Extinktion am Absorptionsmaximum zu $E = 1,220$ bestimmt, woraus sich eine Ausbeute von 6,3 mg (32%) errechnete. Die Lyophilisierung im Hochvakuum ergab 8 mg (40%) farbloses flockiges Salz.

IR in KBr (cm^{-1}) : 2983 w und 2970 w (aliph. CH), 1786 s (β -Lactam - C=O), 1735 s (Ester - C=O), 1696 m, 1685 m, 1636 s (Carboxylat - C=O), 1473 w und 1457 w (CH Def.), 1399 s (Carboxylat - C=O), 1310 m, 1265 m (=C-O-C), 1177 w, 1151 w, 1129 w, 1092 w, 1029 w, 1000 w, 860 w, 835 w, 799 w, 705 w, 670 w.

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 265 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

10. Synthesen der Natriumsalze 3-substituierter 7-Oxo-
4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäuren

10.1. 4-Methylthioazetidin-2-on (52)⁸⁵

In einem 50 ml-Rundkolben mit aufgesetztem Tropftrichter wurde zu einer im Eisbad gerührten Lösung von 1300 mg (10,0 mmol) 4-Acetoxyazetidin-2-on in 10 ml Ethanol eine Lösung von 700 mg (10,0 mmol) Natriumthiomethanolat in 8 ml Ethanol über einen Zeitraum von 10 Minuten zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und 2 Stunden bei Raumtemperatur weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch zwischen 25 ml Wasser und 75 ml Methylenchlorid verteilt, die wäßrige Phase dreimal mit jeweils 30 ml Methylenchlorid extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Methylenchlorid am Rotationsverdampfer abgezogen, wonach der ölige gelbe Rückstand während der Trocknung im Hochvakuum rasch auskristallisierte.

Das Rohprodukt wurde zur Reinigung aus einem Gemisch von 25 ml Diisopropylester und 5 ml Chloroform umkristallisiert und lieferte 905 mg (78%) farblosen Feststoff vom Schmelzpunkt 64 - 66°C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 2,15 (s, 3 H, $-\text{SCH}_3$), 2,95 (ddd, $^2J =$

16 Hz, $^3J = 3$ Hz, $^4J = 1$ Hz, 1 H, 3-H), 3,33 (ddd, $^2J =$
16 Hz, $^3J = 5$ Hz, $^4J = 2$ Hz, 1 H, 3-H), 4,74 (dd, $^3J =$
3 Hz, $^3J = 5$ Hz, 1 H, 4-H), 6,35 - 6,68 (breit, 1 H, N-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}): 3400 m (NH), 2920 w (aliph. CH),
1770 s (β -Lactam - C=O), 1400 w, 1350 m (CH_3 Def.), 1250 w,
1160 m, 1090 w, 980 w, 930 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_4\text{H}_7\text{NOS}$ (117,17)

Ber.: C 41,06 H 6,02 N 11,96 S 27,36

Gef.: C 41,06 H 5,96 N 11,96 S 27,34

Massenspektrum (70 eV, 20 - 30°C) : m/e = 117 M^+ , 102
($-\text{CH}_3$), 90, 89 ($-\text{CO}$), 75 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}^+$), 74 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{S}^+$), 70
($-\text{CH}_3\text{S}$), 59, 48 (CH_4S^+), 47 (CH_3S^+), 43 (CHNO^+).

DC : $R_f = 0,35$ (Essigsäureethylester)

Anfärbung mit Jod

10.2. 2-(4-Methylthio-2-oxo-1-azetidinyl)essigsäure-p-ni-
trobenzylester (53)

In einen 250 ml-Schlenkkolben wurden zu einer auf
-45°C gekühlten Lösung von 3,52 g (30,0 mmol) 52 in 25 ml
trockenem DMF und 35 ml absolutem THF durch ein Septum
zügig 36 ml 1 m Lithiumbistrimethylsilylamidlösung in THF

(36,0 mmol) eingespritzt. 5 Minuten nach beendeter Basenzugabe wurde die Mischung auf -78°C gekühlt, durch das Septum mit einer Lösung von 9,05 g (33,0 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 12 ml trockenem DMF versetzt, erneut auf -45°C erwärmt und weitere 15 Minuten gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde die dunkelrote Suspension mit 300 ml Toluol verdünnt mit 150 ml 0,05 n Essigsäure und dreimal mit insgesamt 300 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, die gesammelten wäßrigen Phasen erneut mit 100 ml Toluol extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Nach Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde der feste Rückstand kurz im Hochvakuum getrocknet, anschließend an einer mit 200 g Kieselgel beladenen Chromatographiesäule mit einem 14 : 1 Fließmittelgemisch aus Toluol und Essigsäureethylester gereinigt und abschließend aus 250 ml Isopropanol umkristallisiert. Eine mehrstündige Trocknung der farblosen Kristalle im Hochvakuum bei $30 - 40^{\circ}\text{C}$ Badtemperatur lieferte 6,02 g (65%) Feststoff vom Schmelzpunkt $103 - 104^{\circ}\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 2,04 (s, 3 H, $-\text{SCH}_3$), 3,01 (dd, $^2\text{J} = 16$ Hz, $^3\text{J} = 3$ Hz, 1 H, 3'-H), 3,42 (dd, $^2\text{J} = 16$ Hz, $^3\text{J} = 5$ Hz, 1 H, 3'-H), 3,80 (d, $^2\text{J} = 18$ Hz, 1 H, 2-H), 4,30 (d, $^2\text{J} = 18$ Hz, 1 H, 2-H), 4,87 (dd, $^3\text{J} = 3$ Hz, $^3\text{J} = 5$ Hz, 1 H, 4'-H), 5,23 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,48 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,19 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1775 s (β -Lactam - C=O), 1760 s (Ester - C=O), 1620 w (C=C), 1530 s (NO_2), 1380 w (CH_3 Def.), 1355 s (NO_2), 1190 m (C-O), 1110 w, 960 w, 920 w, 855 w (CH oop).

Elementaranalyse : $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (310,32)

Ber.: C 50,32 H 4,55 N 9,03 S 10,33

Gef.: C 50,44 H 4,63 N 8,85 S 10,33

Massenspektrum (70 eV, 130 - 140°C) : $m/e = 310 \text{ M}^+$, 295 ($-\text{CH}_3$), 282 ($-\text{CO}$), 263 ($-\text{CH}_3\text{S}$), 235, 221, 193 ($-\text{C}_4\text{H}_7\text{NOS}$), 174 ($-\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2$), 165, 136 ($\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2^+$), 120, 106, 90, 78, 74 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{S}^+$), 61, 56, 42 ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$).

DC : $R_f = 0,32$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.3. 2-(4-Methylthio-2-oxo-1-azetidiny1)-4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitrobenzylester (54 b)

1,25 g (4,0 mmol) 53 wurden in einem 50 ml-Schlenkkolben mit Septum in 15 ml absolutem THF gelöst, auf -78°C gekühlt und nacheinander mit einer Lösung von 731 mg (4,0 mmol) 34 b in 2 ml THF und 8 ml 1 m Lithiumbistrimethylsilylamidlösung in Hexan (8,0 mmol) versetzt. Das tiefrote Reaktionsgemisch wurde 15 Minuten gerührt und anschließend mit 300 ml Toluol verdünnt. Die entstandene

gelbbraune Lösung wurde mit 200 ml 0,01 n Essigsäure, 200 ml Wasser und 100 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingeengt und der rotbraune zähflüssige Rückstand an einer Säule mit 60 g Kieselgel gereinigt. Als Elutionsmittel diente ein 9 : 1 Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester.

Die gesammelten Produktfraktionen lieferten nach mehrstündigem Trocknen im Hochvakuum 1,57 g (86%) hellgelbes analysenreines Schaumharz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,53 - 1,60 (m, 6 H, $4-(\text{CH}_3)_2$), 1,99 und 2,05 (2s, 3 H, $-\text{SCH}_3$), 2,94 - 3,41 (m, 2 H, $3'\text{-H}$), 4,61 - 4,73 (m, 1 H, $4'\text{-H}$), 4,98 - 5,28 (m, 3 H, 2-H und $-\text{O-CH}_2\text{-Ar}$), 7,04 - 7,34 (m, 7 H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ und $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,14 (d, $^3\text{J} = 9 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1725 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1390 w (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1190 m (C-O), 1140 m, 1110 m, 1070 w, 855 w (CH oop).

Elementaranalyse : $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (456,51)

Ber.: C 60,51 H 5,30 N 6,14 S 7,02

Gef.: C 60,19 H 5,27 N 6,08 S 6,99

DC : $R_f = 0,52$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.4. 2-(4-Chloro-2-oxo-1-azetidinyI)-4-methyl-3-oxo-4-phenylpentansäure-p-nitrobenzylester (55 b)

Eine Lösung von 456 mg (1.00 mmol) 54 b in 20 ml trockenem Methylenchlorid wurde in einem 50 ml-Schlenkkolben unter Argon auf -78°C gekühlt und über ein Septum mit 2,00 ml einer Lösung von 860 mg Chlor in 10 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff (172 mg, 2,35 mmol) versetzt, wonach eine schwache Farbvertiefung zu beobachten war. Nach 30 Minuten Rühren bei -78°C wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum bei 0°C Badtemperatur abgezogen und der orangegelbe zähflüssige Rückstand kurz im Hochvakuum getrocknet.

Die erhaltenen 450 mg Rohprodukt wurden säulenchromatographisch mit einem 10 : 1 Fließmittelgemisch aus Benzol und Essigsäureethylester über 10 g Kieselgel gereinigt und lieferten 200 mg (45%) eines gelblichen Harzes.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : $\delta = 1,53 - 1,60$ (m, 6 H, $4-(\text{CH}_3)_2$), $3,18 - 3,68$ (m, 2 H, $3'\text{-H}$), $5,00 - 5,28$ (m, 3 H, 2-H und $-\text{O-CH}_2\text{-Ar}$), $5,68 - 5,75$ (m, 1 H, $4'\text{-H}$), $7,04 - 7,34$ (m, 7 H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ und $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), $8,14$ (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1800 s (β -Lactam - C=O), 1770 s (Ester - C=O), 1725 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1385 w (CH_3 Def.), 1355 s (NO_2), 1200 m (C-O), 1140 w, 1110 w, 1035 w, 1020 w, 955 w, 855 w (CH oop).

DC : $R_f = 0,62$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.5. 3-[(1-Methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (56 b)

In einem 50 ml-Schlenkkolben mit Septum wurde eine auf -35°C gekühlte Lösung von 200 mg (0,45 mmol) 55 b in 25 ml absolutem THF mit 490 μl einer frisch bereiteten 1 m Lösung von Kalium-t-butylat in t-Butanol versetzt. Die rotgefärbte Reaktionslösung wurde nach 20 Minuten Rühren mit 100 ml Benzol verdünnt, zweimal mit 50 ml 0,5 m Phosphatpufferlösung (pH 7) und zweimal mit 50 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Filtration und Eindampfen im Wasserstrahlvakuum konnten 172 mg gelbes Rohprodukt isoliert werden. Die Reinigung erfolgte an einer Säule mit 4 g Kieselgel unter Verwendung eines 14 : 1 Fließmittelgemisches aus Benzol und Essigsäureethylester und ergab 65 mg (35%) gelbes Harz.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,58 (s, 6 H, $3\text{-C}(\text{CH}_3)_2$), 3,52 (dd, $^2\text{J} = 17$ Hz, $^3\text{J}_{\text{trans}} = 1$ Hz, 1 H, 6-H), 3,87 (dd, $^2\text{J} = 17$ Hz, $^3\text{J}_{\text{cis}} = 3$ Hz, 1 H, 6-H), 4,88 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,10 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,97 (dd, $^3\text{J}_{\text{trans}} = 1$ Hz, $^3\text{J}_{\text{cis}} = 3$ Hz, 1 H, 5-H), 7,22 - 7,41 (m, 7 H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ und $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,08 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1805 s (β -Lactam - C=O), 1725 s (Ester - C=O), 1610 w (C=C), 1545 s (NO_2), 1390 w (CH_3 Def.), 1355 s (NO_2), 1325 w, 1210 w, 1190 w, 1090 m (C-O), 1080 m, 1030 w, 1020 w, 855 w (CH oop).

Elementaranalyse : $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ (408,41)

Ber.: C 64,70 H 4,94 N 6,86

Gef.: C 65,27 H 5,34 N 6,68

Massenspektrum (70 eV, 170°C) : $m/e = 408 \text{ M}^+$, 386, 382, 367 ($-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$, $+\text{H}^+$), 337 ($-\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$), 262, 230, 164, 153, 150, 136 ($\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2^+$), 119 ($\text{C}_9\text{H}_{11}^+$), 105 (C_8H_9^+), 91 (C_7H_7^+), 74, 59, 48, 41 (C_3H_5^+).

DC : $R_f = 0,65$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.6. 3-[(1-Methyl-1-phenyl)ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (57 b)

In einem zweiphasigen Gemisch aus 1,5 ml Essigsäureethylester und 1,5 ml 0,05 m Natriumhydrogencarbonatlösung (75 µl) wurden 45 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) in einem 10 ml-Hydrierkolben bei 0°C vorhydriert. Anschließend wurde durch das Septum eine Lösung von 30 mg (74 µmol) 56 b in 1,5 ml Essigsäureethylester zugespritzt. Die Wasserstoffaufnahme war nach 65 Minuten beendet und betrug 5,7 ml (theoretischer Verbrauch : 6,4 ml = 4 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde über eine mit Hyflo Super Cel beschichtete Glasfritte abfiltriert und der Katalysator mit 1,5 ml Wasser und 1,5 ml Essigsäureethylester nachgewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt und verworfen und die wäßrige Phase zweimal mit insgesamt 2 ml Essigsäureethylester gewaschen und im Hochvakuum von Resten des organischen Lösungsmittels befreit.

30 µl der Stammlösung wurden in 3 ml Wasser verdünnt und UV-spektroskopisch untersucht. Die gemessene Extinktion $E = 0,540$ ergab eine Ausbeute von 6,1 mg (28%), die Lyophilisierung im Hochvakuum lieferte 5,0 mg farbloses Salz.

UV (H_2O) : $\lambda_{max} = 274 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

10.7. 2-(4-Methylthio-2-oxo-1-azetidiny1)-4-methyl-3-oxo-
4-(2-thienyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (54 a)

In einem 50 ml-Schlenkkolben mit Septum wurden 310 mg (1,00 mmol) 53 in 10 ml frisch destilliertem THF gelöst und nach Kühlung auf -78°C mit einer Lösung von 189 mg (1,00 mmol) 34 a in 2 ml THF, sowie 2,00 ml 1 m Lithiumbis-trimethylsilylamidlösung in THF (2,00 mmol) versetzt und 20 Minuten intensiv gerührt. Nach Ablauf der Reaktionsdauer wurde das tiefrote Gemisch mit 100 ml Toluol verdünnt und die gelbe Lösung zweimal mit insgesamt 100 ml 0,01 n Essigsäure und dreimal mit insgesamt 150 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrigen Phasen wurden vereint und nochmals mit 100 ml Toluol extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden nach Trocknung über Magnesiumsulfat und Filtration am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft.

Die Reinigung des dunkelbelben öligen Rückstandes erfolgte an einer Säule mit 12 g Kieselgel unter Verwendung eines 9 : 1 Fließmittelgemisches aus Toluol und Essigsäure-ethylester und erbrachte nach Trocknung der Produktfraktionen im Hochvakuum 352 mg (76%) hellgelbes Schaumharz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,58 - 1,70 (m, 6 H, $4-(\text{CH}_3)_2$), 2,01 und 2,05 (2s, 3 H, $-\text{SCH}_3$), 2,78 - 3,51 (m, 2 H, 3'-H), 4,76 - 4,91 (m, 1 H, 4'-H), 5,45 und 5,48 (2s, 1 H, 2-H), 6,85 - 6,98 (m, 2 H, 3 und 4-Thienyl H), 7,14 - 7,26 (m,

1 H, 5-Thienyl H), 7,38 (d, $^3J = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,18 (d, $^3J = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w (aliph. CH), 1790 s (β -Lactam - C=O), 1740 s (Ester - C=O), 1725 m (Carbonyl - C=O), 1620 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1380 m (CH_3 Def.), 1355 s (NO_2), 1330 m, 1200 m (C-O), 1115 m, 1100 m, 1025 m, 960 w, 915 w, 855 m (CH oop), 815 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$ (462,53)

Ber.: C 54,53 H 4,80 N 6,06 S 13,86

Gef.: C 55,02 H 5,08 N 5,83 S 13,56

DC : $R_f = 0,59$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.8. 2-(4-Chloro-2-oxo-1-azetidiny)-4-methyl-3-oxo-4-(2-thienyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (55 a)

463 mg (1,00 mmol) 54 a wurden in einem 100 ml-Schlenkkolben unter Argon in 30 ml trockenem Methylenchlorid gelöst und auf -78°C gekühlt. Durch das Septum wurden 1,00 ml einer 1,10 m Lösung von Chlor in trockenem Tetrachlorkohlenstoff (1,10 mmol) zugespritzt. Die hellgelbe Reaktionslösung wurde 20 Minuten bei -78°C gerührt und anschließend am Rotationsverdampfer bei 0°C Badtemperatur vom Lösungsmittel befreit. Der gelbe ölige Rückstand wurde

an einer Chromatographiesäule mit 4 g Kieselgel gereinigt, wobei ein 19 : 1 Gemisch aus Benzol und Essigsäureethylester als Elutionsmittel diente. Nach mehrstündiger Trocknung der Produktfraktionen im Hochvakuum blieben 392 mg (87%) hellgelbes Schaumharz zurück.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,60 - 1,69 (m, 6 H, $4-(\text{CH}_3)_2$), 3,00 - 3,69 (m, 2 H, $3'\text{-H}$), 5,04 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,25 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,38 5,40 und 5,44 (3s, 1 H, 2-H), 5,63 - 5,73 (m, 1 H, $4'\text{-H}$), 6,88 - 7,06 (m, 2 H, 3 und 4-Thienyl H), 7,13 - 7,52 (m, 3 H, 5-Thienyl H und $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,18 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w und 2860 w (aliph. CH), 1800 s (β -Lactam - C=O), 1770 s (Ester - C=O), 1730 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1540 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1370 m (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1275 w, 1200 m (C-O), 1125 w, 1110 w, 1085 w, 1030 w, 1000 w, 980 w, 950 w, 855 w (CH oop), 815 w.

DC : $R_f = 0,60$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.9. 3-[(1-Methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzyl-ester (56 a)

In einem 100 ml-Schlenkkolben mit Septum wurden 440 mg (0,98 mmol) 55 a in 50 ml absolutem THF gelöst, auf -45°C gekühlt und mit 1,02 ml 0,98 m Kalium-t-butylatlösung in t-Butanol (1,00 mmol) versetzt, wonach eine rasche Rotfärbung auftrat. Nach 30 Minuten Reaktionsdauer wurde das Gemisch mit 100 ml Essigsäureethylester verdünnt, mit 50 ml 0,5 m Phosphatpufferlösung (pH 7), 25 ml Wasser und 25 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert.

Nach dem Eindampfen des Filtrats im Wasserstrahlvakuum wurde der viskose Rückstand an einer Säule mit 3 g Kieselgel und Benzol/Essigsäureethylester 19 : 1 als Fließmittel gereinigt und lieferte 290 mg (71%) schwachgelbes, zähflüssiges Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,60 - 1,70 (m, 6 H, $3\text{-C}(\text{CH}_3)_2$), 3,46 (dd, 2J = 17 Hz, $^3J_{\text{trans}}$ = 1 Hz, 1 H, 6-H), 3,84 (dd, 2J = 17 Hz, $^3J_{\text{cis}}$ = 3 Hz, 1 H, 6-H), 5,00 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{-Ar}$), 5,20 (d, 2J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{-Ar}$), 5,91 (dd, $^3J_{\text{trans}}$ = 1 Hz, $^3J_{\text{cis}}$ = 3 Hz, 1 H, 5-H), 6,79 - 7,19 (m, 3 H, Thienyl H), 7,43 (d, 3J = 9 Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,10 (d, 3J = 9 Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w und 2870 w (aliph. CH), 1810 s (β -Lactam - C=O), 1725 s (Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1530 s (NO_2), 1370 m (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1310 m, 1250 m, 1205 m, 1180 m, 1150 m, 1125 m, 1080 s (C-O), 1035 m, 1020 m, 850 w (CH oop).

Elementaranalyse : $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (414,43)

Ber.: C 57,96 H 4,38 N 6,76 S 7,74

Gef.: C 57,59 H 5,06 N 7,00 S 7,60

DC R_f = 0,61 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.10. 3-[(1-Methyl-1-(2-thienyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (57 a)

Eine Suspension von 23 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) in 1,00 ml Essigsäureethylester und 1,50 ml 0,02 m wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung (30 μl) wurde in einem 10 ml-Hydrierkolben mit Septum auf 0°C gekühlt und 35 Minuten vorhydriert. Zur Hydrogenolyse wurde eine Lösung von 10 mg (24 μmol) 56 a in 200 μl Essigsäureethylester zugespritzt und während 70 Minuten hydriert, wonach 2,1 ml Wasserstoff verbraucht waren (theoretische Menge : 2,2 ml = 4 Äq.). Das Zweiphasengemisch wurde über Hyflo Super Cel vom Katalysator abfiltriert, dieser mit 1,5 ml Essigsäureethylester und 2,5 ml Wasser nachgewaschen und die wäßrige

von der organischen Phase abgetrennt. Die vereinigten wäßrigen Phasen wurden dreimal mit insgesamt 1,5 ml Essigsäureethylester gewaschen und die organischen Lösungsmittelreste im Hochvakuum entfernt.

Zur Ausbeutebestimmung wurde eine 30 µl-Probe der Salzlösung mit 3 ml Wasser verdünnt und die Extinktion zu $E = 0,290$ gemessen, woraus sich eine Produktmenge von 6,0 mg (83%) errechnete. Die Lyophilisierung der Salzlösung im Hochvakuum lieferte 4,7 mg (65%) hellgrauen Feststoff.

IR in KBr (cm^{-1}) : 2940 m und 2838 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - C=O), 1631 s (C=C), 1592 s (COONa), 1505 s, 1465 s (CH Def.), 1417 s, 1385 s (COONa), 1241 s (C-O), 1173 s, 1126 s (C-O), 1086 s, 1005 s, 960 w, 925 w, 855 w (CH oop), 830 w, 790 w und 770 w (Ringdef.), 675 w, 469 w.

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 235 \text{ nm}$ ($\epsilon = 12960$)
 $\lambda_{\text{schulter}} = 270 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

10.11. 2-Methyl-2-(3-pyridyl)propionsäureethylester (59)

In einem 250 ml-Dreihalskolben mit 2 Tropftrichtern, Gasblasenzähler und KPG-Rührer wurde eine Aufschlammung von 2,80 g einer 50%igen Natriumhydrid dispersion in Mineralöl (60,6 mmol) in 50 ml trockenem DMF vorgelegt und bei 0°C kräftig gerührt. Aus beiden Tropftrichtern wurden gleich-

zeitig 8,10 g (3,6 ml, 60,6 mmol) Methyljodid und eine Lösung von 2,50 g (15,2 mmol) 3-Pyridylelessigsäureethylester in 5 ml trockenem DMF während 30 Minuten zugetropft, wobei der Gasblasenzähler den Verlauf der Reaktion anzeigte. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch noch 3 Stunden intensiv bei 0°C gerührt, wobei es sich allmählich rot färbte.

Zur Aufarbeitung wurde der Kolbeninhalt langsam in ein gut gerührtes Gemisch aus 100 g zerstoßenem Eis und 60 ml 1 n Salzsäure gegossen, die entstandene Suspension mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung neutralisiert und das Gemisch dreimal mit jeweils 100 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Wasserstrahlvakuum eingeeengt. Die nachfolgende Hochvakuumdestillation bei 0,05 Torr und 140 - 160°C Badtemperatur lieferte 1,38 g (47%) farbloses Öl mit einem Siedebereich von 79 - 81°C.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,20 (t, $^3\text{J} = 7$ Hz, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_3$), 1,59 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 4,10 (q, $^3\text{J} = 7$ Hz, 2 H, $-\text{O}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_3$), 7,00 - 7,23 (m, 1 H, 5-Pyridyl H), 7,40 - 7,58 (m, 1 H, 4-Pyridyl H), 8,28 - 8,53 (m, 2 H, 2 und 6-Pyridyl H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2900 w (aliph. CH), 1750 s (Ester - C=O), 1570 w (C=C), 1470 w (CH Def.), 1370 w und 1380 w

(CH₃ Def.), 1240 w, 1195 w, 1150 s (C-O), 1105 m, 1020 m,
855 w (CH oop), 810 w.

Elementaranalyse : C₁₁H₁₅NO₂ (193,25)

Ber.: C 68,37 H 7,82 N 7,25

Gef.: C 68,66 H 7,91 N 7,39

DC : R_f = 0,27 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.12. 2-Methyl-2-(3-pyridyl)propionsäure, K-Salz (60)

In einem 10 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler wurde ein Gemisch aus 1,00 g (5,17 mmol) 59, 320 mg (5,70 mmol) Kaliumhydroxid und 6 ml Wasser 1 Stunde rückflußgekocht und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Die schwach gelbe Reaktionslösung wurde zweimal mit insgesamt 5 ml Toluol gewaschen und die wäßrige Phase bei 40°C Badtemperatur im Wasserstrahlvakuum eingedampft. Der ölige Rückstand wurde im Hochvakuum bei 60°C Badtemperatur über mehrere Stunden getrocknet und ergab 1,06 g (100%) farbloses, stark hygroskopisches Pulver, das ohne weitere Reinigung für die nächsten Umsetzungen verwendet werden konnte.

¹H-NMR (d₆-DMSO) : δ = 1,33 (s, 6 H, -C(CH₃)₂), 7,03 - 7,26 (m, 1 H, 5-Pyridyl H), 7,56 - 7,75 (m, 1 H, 4-Pyridyl H), 8,15 - 8,29 (m, 1 H, 6-Pyridyl H), 8,46 - 8,56 (m, 1 H,

2-Pyridyl H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3050 w (arom. CH), 2966 m 2925 w und 2870 w (aliph. CH), 1580 s (COOK), 1480 m und 1466 m (CH Def.), 1413 m, 1396 s (COOK), 1363 m und 1352 m (CH_3 Def.), 1112 w, 1025 w, 856 w (CH oop), 820 w, 770 w, 717 m und 709 m (Ringdef.), 660 w, 625 w.

10.13. 2-Methyl-2-(3-pyridyl)propionsäurechlorid (61)

Eine Lösung von 1,00 g (4,92 mmol) 60 in 8,17 g (5,00 ml, 68,7 mmol) Thionylchlorid wurde in einem 10 ml-Rundkolben mit Rückflußkühler 60 Stunden bei einer Ölbadtemperatur von 90 - 100°C rückflußgekocht und dann auf Raumtemperatur gekühlt. Die gelbe Suspension wurde im Hochvakuum bei einer Badtemperatur von 150 - 160°C und einem Druck von 0,05 Torr einer Mikrodestillation unterworfen und ergab 428 mg (47%) eines farblosen bei Raumtemperatur zersetzlichen Öls.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,73 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 7,21 - 7,44 (m, 1 H, 5-Pyridyl H), 7,59 - 7,79 (m, 1 H, 4-Pyridyl H), 8,43 - 8,63 (m, 2 H, 2 und 6-Pyridyl H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w und 2860 w (aliph. CH), 1800 s ($\text{C}=\text{O}$), 1580 w ($\text{C}=\text{C}$), 1470 m (CH Def.), 1410 w, 1390 w und

1375 w (CH_3 Def.), 1200 w, 1190 w, 1150 w, 1110 w, 1025 m, 965 s, 940 s, 885 s, 810 w.

Massenspektrum (70 eV, 130 - 140°C) : $m/e = 185$ und 183 M^+ , 148 ($-\text{Cl}$), 142 und 140 ($-\text{CO}$, $-\text{CH}_3$), 120 ($-\text{CO}$, $-\text{Cl}$), 104 ($\text{C}_7\text{H}_6\text{N}^+$), 92 ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}^+$), 80 ($\text{C}_5\text{H}_6\text{N}^+$), 78 ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}^+$), 77, 65, 57, 41 (C_3H_5^+), 39 (C_3H_3^+).

10.14. 4-t-Butylthioazetidin-2-on (62)

In einem 500 ml-Dreihalskolben mit 2 Tropftrichtern und einem Innenthermometer wurde eine Lösung von 9,30 ml (7,44 g, 82,5 mmol) t-Butylmercaptan in 40 ml Acetonitril vorgelegt. Zu diesem im Eisbad gerührten Gemisch wurden während 10 Minuten 44 ml 1,86 n Natronlauge (82,5 mmol) getropft. Anschließend wurde eine Lösung von 14,3 g (75,0 mmol) 4-Benzoyloxyazetidin-2-on in 56 ml Acetonitril über einen Zeitraum von 30 Minuten so zugetropft, daß die Innentemperatur nicht über 0°C stieg. Nach beendeter Zugabe wurde das Gemisch noch 1 Stunde weitergerührt und dann 12 Stunden bei 0°C gelagert.

Die gelbe Reaktionslösung wurde zur Aufarbeitung in 500 ml Methylenchlorid aufgenommen, die wäßrige Phase abgetrennt und mit 100 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 100 ml 1 n Salzsäure, zweimal mit jeweils 100 ml gesättigter Natrium-

hydrogencarbonatlösung und schließlich mit 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde im Wasserstrahlvakuum abgedampft und der Rückstand aus 160 ml Dibutylether umkristallisiert.

Nach eintägiger Trocknung im Hochvakuum wurden 9,80 g (82%) hellgelbe Kristalle vom Schmelzpunkt 119 - 120°C erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,37 (s, 9 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,85 (ddd, $^2\text{J} = 15$ Hz, $^3\text{J} = 3$ Hz, $^4\text{J} = 2$ Hz, 1 H, 3-H), 3,45 (ddd, $^2\text{J} = 15$ Hz, $^3\text{J} = 5$ Hz, $^4\text{J} = 2$ Hz, 1 H, 3-H), 4,86 (dd, $^3\text{J} = 5$ Hz, $^3\text{J} = 3$ Hz, 4-H), 6,55 - 6,86 (breit, 1 H, N-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3400 m (NH), 2950 m und 2860 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1460 w (CH Def.), 1410 w, 1370 m (CH_3 Def.), 1340 m, 1230 w, 1160 s, 1090 w, 970 m, 925 w.

Elementaranalyse : $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NOS}$ (159,25)

Ber.: C 52,80 H 8,23 N 8,80 S 20,13

Gef.: C 52,97 H 8,08 N 8,94 S 20,26

DC : $R_f = 0,25$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

10.15. (4-t-Butythio-2-oxo-1-azetidiny)essigsäure-
p-nitrobenzylester (63)

Eine Lösung von 3,18 g (20,0 mmol) 62 in einer Mischung aus 10 ml trockenem DMF und 30 ml absolutem THF wurde in einem 100 ml-Schlenkkolben mit Septum auf -45°C gekühlt und zügig mit 24,0 ml 1 m Lithiumbistrimethylsilylamidlösung in THF (24,0 mmol) versetzt und 5 Minuten gerührt. Nach Abkühlen auf -78°C wurde durch das Septum eine Lösung von 6,03 g (22,0 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 10 ml DMF zugespritzt und die entstandene dunkelrote Suspension erneut auf -45°C erwärmt und weitere 25 Minuten gerührt.

Das Reaktionsgemisch wurde dann zur Aufarbeitung mit 250 ml Toluol verdünnt, nacheinander mit 100 ml 0,02 n Essigsäure, 100 ml halbgesättigter Kochsalzlösung und 100 ml Wasser gewaschen, die vereinigten wäßrigen Phasen erneut zweimal mit 100 ml Toluol extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtration vom Trockenmittel wurde die Lösung im Wasserstrahlvakuum eingedampft und das Rohprodukt an einer Säule mit 170 g Kieselgel gereinigt.

Die Chromatographie lieferte unter Verwendung einer 6 : 1 Mischung aus Toluol und Essigsäureethylester als Elutionsmittel 4,92 g kristallines Material, das aus 220 ml Isopropanol umkristallisiert wurde, wonach die Gesamtausbeute 4,22 g (60%) farbloses Produkt vom Schmelzpunkt

83 - 85°C betrug.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,28 (s, 9 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,95 (dd, $^2\text{J} = 15$ Hz, $^3\text{J} = 2$ Hz, 1 H, 3'-H), 3,56 (dd, $^2\text{J} = 15$ Hz, $^3\text{J} = 5$ Hz, 1 H, 3'-H), 3,78 (d, $^2\text{J} = 18$ Hz, 1 H, 2-H), 4,30 (d, $^2\text{J} = 18$ Hz, 1 H, 2-H), 4,98 (dd, $^3\text{J} = 2$ Hz, $^3\text{J} = 5$ Hz, 1 H, 4'-H), 5,25 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,48 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,20 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2910 w und 2860 w (aliph CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1755 s (Ester - C=O), 1605 w (C=C), 1520 s (NO_2), 1460 w (CH Def.), 1380 m (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1185 s (C-O), 1110 w, 1080 w, 1060 w, 1000 w, 975 w, 945 w, 920 w, 850 w (CH oop), 810 w.

DC : $R_f = 0,38$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.16. 2-(4-t-Butythio-2-oxo-1-azetidiny1)-4-methyl-3-oxo-4-(3-pyridyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (64)

In einem 25 ml-Schlenkkolben wurden 180 mg (0,50 mmol) ?? in 10 ml absolutem THF bei -78°C vorgelegt und dann durch das Septum nacheinander 138 mg (0,75 mmol) frisch destilliertes ?? und 1,20 ml 1 m Lithiumbistrimethylsilylamidlösung in THF zugespritzt. Die dunkelrote Reaktionslösung wurde 30 Minuten bei -78°C gerührt und anschließend in

100 ml Benzol gegossen. Die benzolische Lösung wurde dreimal mit insgesamt 150 ml gesättigter Kochsalzlösung und zweimal mit jeweils 50 ml Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Der gelbbraune, ölige Rückstand wurde nach kurzer Trocknung im Hochvakuum an einer Säule mit 7 g Kieselgel und einem 2 : 1 Fließmittelgemisch aus Toluol und Essigsäureethylester gereinigt. Die gesammelten Produktfraktionen ergaben 90 mg (36%) gelbes Harz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,25 und 1,33 (2s, 9 H, $-\text{SC}(\text{CH}_3)_3$), 1,63, 1,70 und 1,75 (3s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2,75 - 3,71 (m, 2 H, 3'-H), 4,83 - 5,35 (m, 4 H, 4'-H, 2-H und $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,25 - 7,75 (m, 4 H, 4 und 5-Pyridyl H und $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,16 (d, $^3\text{J} = 9 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,38 - 8,71 (m, 2 H, 2 und 6-Pyridyl H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2900 w und 2870 w (aliph. CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1720 m (Carbonyl - C=O), 1660 w, 1610 w (C=C), 1520 s (NO_2), 1475 w (CH Def.), 1380 w und 1360 w (CH_3 Def.), 1350 s (NO_2), 1310 w, 1190 m (C-O), 1110 w, 1020 w, 850 w (CH oop), 810 w.

DC : $R_f = 0,35$ (Essigsäureethylester)

10.17. 2-(4-Chloro-2-oxo-1-azetidinyI)-4-methyl-3-oxo-
4-(3-pyridyl)pentansäure-p-nitrobenzylester (65)

Eine Vorlage von 90 mg (0,18 mmol) 64 in 7 ml trockenem Methylenchlorid wurde bei -78°C unter Argon in einem 25 ml-Schlenkkolben mit Septum mit 680 μl einer Lösung von 366 mg Chlor in 10 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff (25 mg, 0,36 mmol) versetzt und 30 Minuten gerührt. Die hellgelbe Reaktionslösung wurde anschließend im Wasserstrahlvakuum unter Eisbadkühlung vom Lösungsmittel befreit und der hellbraune ölige Rückstand im Hochvakuum getrocknet, wonach man 81 mg (100%) gelbes Schaumharz erhielt.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,71 - 1,76 (m, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2,88 - 3,85 (m, 2 H, 3'-H), 5,25 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,48 und 5,60 (2s, 1 H, 2-H), 5,71 - 6,00 (m, 1 H, 4'-H), 7,35 - 7,63 (m, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 7,73 - 8,00 (m, 1 H, 5-Pyridyl H), 8,16 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,29 - 8,51 (m, 1 H, 4-Pyridyl H), 8,54 - 8,79 (m, 2 H, 2 und 6-Pyridyl H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2910 w und 2860 w (aliph. CH), 1790 s (β -Lactam - C=O), 1760 s (Ester - C=O), 1724 m (Carbonyl - C=O), 1610 w (C=C), 1520 s (NO_2), 1470 w (CH Def.), 1350 s (NO_2), 1315 w, 1190 m (C-O), 1110 w, 1015 w, 970 w, 940 w, 855 w (CH oop), 815 w.

DC : $R_f = 0,33$ (Essigsäureethylester)

10.18. 3-[(1-Methyl-1-(3-pyridyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-aza-
bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzyl-
ester (66)

80 mg (0,18 mmol) 65 wurden in einem 25 ml-Schlenk-
kolben mit Septum vorgelegt und bei -78°C unter kräftigem
Rühren mit 180 μl einer frisch bereiteten 1 m Lösung von
Kalium-t-butylat in t-Butanol (0,18 mmol) versetzt. Die
rötliche Reaktionslösung wurde noch 25 Minuten weiterge-
rührt und der Kolbeninhalt dann in 50 ml Benzol gegossen
und nacheinander mit 30 ml gesättigter Kochsalzlösung,
30 ml Wasser und erneut 20 ml gesättigter Kochsalzlösung
gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat
getrocknet und abfiltriert; das Filtrat am Rotationsver-
dampfer vom Lösungsmittel befreit und der gelbe ölige
Rückstand im Hochvakuum getrocknet, wonach 21 mg (28%)
viskoses Öl zurückblieben.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,63 (s, 6 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 3,53 (dd,
 $^2\text{J} = 16$ Hz, $^3\text{J} = 1$ Hz, 1 H, 6-H), 3,88 (dd, $^2\text{J} = 16$ Hz,
 $^3\text{J} = 3$ Hz, 1 H, 6-H), 4,95 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$),
5,10 (d, $^2\text{J} = 14$ Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,95 - 6,05 (m, 1 H,
5-H), 7,00 - 8,63 (m, 8 H, Pyridyl H und $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 w und 2860 w (aliph. CH), 1800 s
(β -Lactam - C=O), 1720 s (Ester - C=O), 1610 m C=C), 1520 s
(NO_2), 1470 w (CH Def.), 1350 s (NO_2), 1310 m, 1175 m,

1010 m, 1090 s (C-O), 1010 m, 860 w (CH oop), 805 w.

DC : $R_f = 0,32$ (Essigsäureethylester)

10.19. 3-[(1-Methyl-1-(3-pyridyl))ethyl]-7-oxo-4-oxa-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (67)

In einem 10 ml-Hydrierkolben mit Septum wurden 60 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) in einem Zweiphasengemisch aus 1 ml Essigsäureethylester und 1 ml einer Lösung von 24 mg Natriumhydrogencarbonat in 10 ml Wasser (29 μmol) aufgeschlämmt und während 30 Minuten bei 0°C vorhydriert. Anschließend wurde das Gemisch mit einer Lösung von 12 mg (29 μmol) 66 in 1 ml Essigsäureethylester versetzt und 35 Minuten bei 0°C hydriert, wonach 2,4 ml Wasserstoff verbraucht waren (theoretische Menge : 2,6 ml = 4 Äq.).

Die Suspension wurde über Hyflo Super Cel vom Katalysator abfiltriert, dieser mit 1 ml Wasser und 1 ml Essigsäureethylester nachgewaschen und die wäßrige von der organischen Phase getrennt. Die Wasserphase wurde dreimal mit jeweils 1 ml Essigsäureethylester gewaschen und im Hochvakuum von Resten des organischen Lösungsmittels befreit.

Zur Gehaltsbestimmung wurden 100 μl der Salzlösung in einer Quarzküvette mit 3 ml Wasser verdünnt und die Extinktion dieser Lösung am längstwelligen Absorptionsmaximum zu

$E = 0,668$ gemessen. Unter Zugrundelegung eines Extinktionskoeffizienten von $\epsilon = 7000$ (ϵ' (m-subst. Pyridin (260 nm)) = 2200^{115} und ϵ (Grundkörper (260 nm)) = 5800) errechnete sich eine Ausbeute von 1,62 mg (21%) Natriumsalz. Die restliche Salzlösung wurde im Hochvakuum lyophilisiert und ergab 2 mg (26%) flockigen Feststoff.

IR in KBr (cm^{-1}) : 3010 w (arom. CH), 2966 w und 2940 w (aliph. CH), 1785 s (β -Lactam - C=O), 1630 w (COONa), 1420 m (COONa), 1329 w, 1311 m, 1288 s, 1253 s, 1163 m, 1091 m (C-O), 1059 m, 979 w, 669 w, 666 w, 590 w, 576 w, 524 w.

UV(H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 260 \text{ nm}$ ($\epsilon = 7000$)

11. Synthesen der Kaliumsalze 4-methylsulfonyl-substituierter Azetidin-2-on-N-sulfonsäuren

11.1. 4-Methylsulfonylazetidin-2-on (73)

A) In einem mit Innenthermometer und kühlbarem Tropftrichter versehenen 500 ml-Dreihalskolben wurde eine Lösung von 5,00 g (42,7 mmol) 52 in 172 ml Aceton vorgelegt und bei 0°C kräftig gerührt. Zur Eduktlösung wurde eine auf -5°C gekühlte Lösung von 9,03 g (57,0 mmol) Kaliumpermanganat in 200 ml 0,2 n Schwefelsäure innerhalb 1 Stunde so zugetropft, daß die Innentemperatur nicht über 0°C stieg. Nach beendeter Reaktionsdauer wurde von ausgefallenem Braunstein abgesaugt, das Filtrat im Wasserstrahlvakuum fast bis zur Trockne eingeeengt, unter Eiskühlung mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung neutralisiert und schließlich bis zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand wurde zweimal aus jeweils 100 ml Wasser umkristallisiert und lieferte 3,90 g (61%) farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 137 - 138°C.

B) Eine auf 0°C gekühlte Lösung von 1,17 g (10,0 mmol) 52 in 100 ml trockenem Methylenchlorid wurde in einem 250 ml-Dreihalskolben mit Innenthermometer unter leichtem Stickstoffstrom mit 4,32 g (25,0 mmol) m-Chlorperbenzoesäure versetzt. 15 Minuten nach beendeter Zugabe wurde das

Eisbad entfernt und 2 Stunden bei Raumtemperatur weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch nacheinander mit 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 50 ml 10%iger Natriumbisulfitlösung und 50 ml halbgesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingedampft, der hellgelbe feste Rückstand kurz im Hochvakuum getrocknet und dann aus 35 ml Wasser umkristallisiert, wonach 1,20 g (80%) farbloses, kristallines Material mit einem Schmelzpunkt von 137 - 138°C zurückblieben.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : δ = 3,12 (s, 3 H, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$), 3,15 - 3,65 (m, 2 H, 3-H), 5,07 (dd, $^3\text{J} = 5 \text{ Hz}$, $^3\text{J} = 2 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3365 w (NH), 2970 w und 2920 w (aliph. CH), 1775 s (β -Lactam - C=O), 1413 w, 1380 w (CH_3 Def.), 1307 s (SO_2), 1292 s, 1257 w, 1169 m, 1144 s (SO_2), 1060 w, 956 w, 948 w, 920 w, 764 w, 628 w, 520 m (SO_2), 495 w, 477 w. (Zur IR-Interpret. der SO_2 -Gruppe siehe¹¹⁶)

Elementaranalyse : $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ (149,18)

Ber.: C 32,20 H 4,73 N 9,39 S 21,49

Gef.: C 32,09 H 4,69 N 9,36 S 21,50

DC : $R_f = 0,21$ (Essigsäureethylester)

11.2. 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure,
Pyridiniumsalz (74)

Eine Lösung von 298 mg (2,00 mmol) 73 und 370 mg (2,32 mmol) frisch bereitete Pyridin-N-sulfonsäure¹¹¹ in 4 ml absolutem Pyridin wurde in einem 10 ml-Rundkolben mit aufgesetztem Rückflußkühler 2,5 Stunden bei 80 - 90°C Ölbadtemperatur gerührt, wobei sich die Reaktionslösung allmählich rot färbte. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde das Gemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und die Hälfte des Lösungsmittels im Wasserstrahlvakuum bei 30 - 40°C Badtemperatur abgezogen. Der verbliebene Rest wurde mit einer Mischung aus 5 ml Methanol und 3 ml Ethanol versetzt, der gebildete Niederschlag abfiltriert und aus einem Lösungsmittelgemisch von 20 ml Methanol und 10 ml Ethanol umkristallisiert, wonach 486 mg (79%) perlmuttfarbene Blättchen mit einem Schmelzpunkt von 148°C (Zersetzung) zurückblieben.

¹H-NMR (d_6 -DMSO) : δ = 2,80 - 3,50 (m, 2 H, 3-H), 3,15 (s, 3 H, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$), 5,00 (dd, $^3J = 6$ Hz, $^3J = 3$ Hz), 7,93 - 8,18 (m, 2 H, Pyridinium H), 8,45 - 8,73 (m, 2 H, Pyridinium H), 8,83 - 8,98 (m, 2 H, Pyridinium H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3261 w (NH), 3193 w, 3145 w, 3111 w, 3020 w (olef. CH), 2930 w (aliph. CH), 1772 s (β -Lactam - C=O), 1640 w und 1620 w (C=N und C=C), 1536 w, 1490 w

(CH Def.), 1312 m und 1292 s und 1278 s (SO_2 und SO_3), 1166 w, 1143 m (SO_2), 1128 w, 1050 s (SO_3), 960 w, 830 w, 740 w, 680 m, 645 m, 595 w, 570 w, 520 m (SO_2).

Elementaranalyse : $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$ (308,32)

Ber.: C 35,06 H 3,92 N 9,09 S 20,80

Gef.: C 35,19 H 3,80 N 9,01 S 20,84

11.3. 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure,

K-Salz (75)

Eine eiskühlte Lösung von 360 mg (1,16 mmol) **74** in 4 ml Wasser wurde unter kräftigem Rühren tropfenweise mit 11,6 ml 0,1 n Kaliumhydroxidlösung (1,16 mmol) versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde noch 10 Minuten weitergerührt, das Reaktionsgemisch auf pH-Neutralität überprüft und die Lösung gefriergetrocknet. Das Lyophilisat wurde aus 10 ml eines 3 : 7 Gemisches von Methanol und Ethanol umkristallisiert und lieferte 305 mg (98%) farblose Blättchen vom Schmelzpunkt 184°C (Zersetzung).

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) : δ = 2,80 - 3,50 (m, 2 H, 3-H), 3,12 (s, 3 H, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$), 5,00 (dd, $^3\text{J} = 6 \text{ Hz}$, $^3\text{J} = 3 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3016 w, 2975 w und 2940 w (aliph. CH), 1782 s (β -Lactam - C=O), 1311 s und 1288 s und 1263 s (SO_2)

und SO_3), 1202 w, 1150 m (SO_2), 1080 w, 1050 s (SO_3), 981 w, 951 w, 766 w, 686 w, 647 m, 589 w, 576 w, 524 m (SO_2), 435 w.

Elementaranalyse : $\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}_6\text{S}_2\text{K}$ (267,31)

Ber.: C 17,97 H 2,26 N 5,24 S 23,99 K 14,63

Gef.: C 18,47 H 2,30 N 5,27 S 23,54 K 14,60

11.4. 4-Hydroxyethylsulfonyl-3-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxymethyl)azetidin-2-on (77)

9,00 g (21,0 mmol) 2,2-Dimethyl-8-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxymethyl)-9-oxo-3-oxa-6-thia-1-azabicyclo-[5.2.0^{1,7}]nonan-6-dioxid wurden in einem 250 ml-Rundkolben mit aufgesetztem Rückflußkühler in 150 ml Eisessig gelöst, mit 35 ml Wasser versetzt und 2 Stunden rückflußgekocht. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum bei 40 - 50°C Badtemperatur abgezogen. Der ölige Rückstand wurde über mehrere Stunden im Hochvakuum getrocknet und ergab 8,19 g (100%) Schaumharz, das ohne weitere Reinigung für die nächsten Umsetzungen verwendet werden konnte.

190 mg des Rohprodukts wurden für analytische Zwecke über eine Säule mit 5 g Kieselgel mit einem 1 : 2 Fließmittelgemisch aus Toluol und Essigsäureethylester chromatographiert und ergaben nach gründlicher Trocknung im Hochva-

kuum 157 mg analysenreines, farbloses, kristallienes Produkt mit einem Schmelzbereich von 124 - 128°C.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) : $\delta = 3,28 - 3,45$ (m, 2 H, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$),
 3,71 - 3,93 (m, 3 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ und 3-H), 4,41 (d, $^3\text{J} =$
 4 Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{OCOO}$), 4,88 (d, $^3\text{J} = 2$ Hz, 1 H, 4-H),
 5,10 - 5,28 (s, 1 H, -OH), 5,30 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,63
 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,22 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H,
 $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 9,00 - 9,20 (s, 1 H, N-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3430 m (OH), 3246 m (NH), 2960 w und
 2920 w (aliph. CH), 1769 s (β -Lactam - C=O), 1750 s
 (Carbonat - C=O), 1608 m (C=C), 1527 s (NO_2), 1456 w (C=C),
 1394 m, 1347 s (NO_2), 1319 m (SO_2), 1266 s (C-O), 1121 s
 (SO_2), 1093 w, 1064 w, 1008 w, 983 w, 853 w (CH oop), 786
 w, 741 m (Ringdef.), 717 w, 527 m (SO_2).

Elementaranalyse : $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_9\text{S}$ (388,35)

Ber.: C 43,30 H 4,15 N 7,21 S 8,26

Gef.: C 43,43 H 4,23 N 7,20 S 8,25

DC : $R_f = 0,32$ (Essigsäureethylester)

11.5. 4-Methylthio-3-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxymethyl)-
azetidin-2-on (78)

Zu einer bei 0°C gerührten Lösung von 3,88 g (10,0 mmol) 77 in 10 ml Ethanol in einem 50 ml-Zweihalskolben mit Innenthermometer und Tropftrichter wurde während 10 Minuten eine Lösung von 700 mg (10,0 mmol) Natriumthiomethanolat in 10 ml Ethanol getropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und die gelbgefärbte Reaktionslösung 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Gemisch zwischen 75 ml Methylenchlorid und 50 ml Wasser verteilt und die abgetrennte wäßrige Phase anschließend erneut dreimal mit jeweils 30 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit.

Der dunkelgelbe ölige Rückstand wurde an einer Chromatographiesäule mit 70 g Kieselgel gereinigt, wobei eine 1 : 1 Mischung aus Toluol und Essigsäureethylester als Elutionsmittel diente. Während der Trocknung der Produktfraktionen im Hochvakuum begann das zähflüssige Öl auszukristallisieren und lieferte 2,32 g (71%) schwachgelben Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 76 - 77°C.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) : δ = 2,10 (s, 3 H, $-\text{SCH}_3$), 3,44 (dt, ^3J = 5 Hz, ^3J = 2 Hz, 1 H, 3-H), 4,39 (d, ^3J = 5 Hz, $-\text{CH}_2-\text{OCOO}$), 4,65 (d, ^3J = 2 Hz, 1 H, 4-H), 5,28 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$),

7,63 (d, $^3J = 9 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,20 (d, $^3J = 9 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,48 - 8,70 (s, 1 H, N-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3231 w (NH), 2970 w und 2920 w (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1751 s (Carbonat - C=O), 1607 w (C=C), 1517 s (NO_2), 1496 w, 1457 w (C=C), 1447 w, 1393 m, 1350 s (NO_2), 1265 s (C-O), 1154 w, 1109 w, 961 m, 861 w, 852 m (CH oop), 791 w, 785 w, 741 m (Ringdef.).

Elementaranalyse : $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (326,32)

Ber.: C 47,85 H 4,32 N 8,58 S 9,82

Gef.: C 48,22 H 4,21 N 8,45 S 9,96

DC : $R_f = 0,51$ (Essigsäureethylester)

11.6. 4-Methylsulfonyl-3-(p-nitrobenzyloxycarbonyloxy-methyl)azetidin-2-on (79)

In einem 100 ml-Dreihalskolben mit Innenthermometer wurde eine im Eisbad gerührte Lösung von 1,31 g (4,00 mmol) ?? in 35 ml trockenem Methylenchlorid unter einem leichten Stickstoffstrom portionsweise mit 1,33 g (10,0 mmol) m-Chlorperbenzoesäure versetzt. 30 Minuten nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt, weitere 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und dann zur Aufarbeitung nacheinander mit 20 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung,

20 ml 10%iger Natriumbisulfitlösung und 20 ml halbgesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Filtrat wurde im Wasserstrahlvakuum eingedampft, der Rückstand in wenig Essigsäureethylester aufgenommen und erneut am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit.

Der schwachgelbe feste Rückstand lieferte nach kurzer Trocknung im Hochvakuum und anschließender Umkristallisation aus 60 ml Isopropanol 1,21 g (84%) farbloses Pulver mit einem Schmelzpunkt von 81 - 83°C.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) : δ = 3,05 (s, 3 H, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$), 3,85 (dt, $^3\text{J} = 5$ Hz, $^3\text{J} = 2$ Hz, 1 H, 3-H), 4,45 (d, $^3\text{J} = 5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{OCOO}$), 4,95 (d, $^3\text{J} = 2$ Hz, 1 H, 4-H), 5,34 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,68 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8,25 (d, $^3\text{J} = 9$ Hz, 2 H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 9,03 - 9,25 (s, 1 H, N-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 3310 m (NH), 3120 w, 3090 w und 3020 w (olef. CH), 2970 w und 2940 w (aliph. CH), 1791 s (β -Lactam - C=O), 1756 s (Carbonat - C=O), 1610 m (C=C), 1521 s (NO_2), 1456 w (C=C), 1394 m, 1352 s (NO_2), 1310 s (SO_2), 1268 s (C-O), 1180 w, 1144 s (SO_2), 1015 w, 956 m, 853 m (CH oop), 785 w, 763 w, 738 m (Ringdef.), 700 w, 581 w, 521 m (SO_2).

Elementaranalyse : $C_{13}H_{14}N_2O_8S$ (358,32)

Ber.: C 43,58 H 3,94 N 7,82 S 8,95

Gef.: C 43,41 H 3,91 N 7,76 S 8,96

DC : $R_f = 0,40$ (Essigsäureethylester)

11.7. 3-Hydroxymethyl-4-methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure, K-Salz (80)

Eine Lösung von 36 mg (100 μ mol) 79 in 800 μ l frisch destilliertem DMF wurde mit 18 mg (120 μ mol) frisch bereiteter DMF-N-sulfonsäure^{an. 111} versetzt und in einer 2 ml-Schliffkappe mit aufgesetztem Rückflußkühler 90 Minuten bei einer Ölbadtemperatur von 80 - 90°C erhitzt und anschließend auf 0°C gebracht. Die eisgekühlte Reaktionslösung wurde nun unter kräftigem Rühren tropfenweise mit 1,40 ml 0,1 n Kaliumhydroxidlösung (140 μ mol) neutralisiert und nach Überführung in einen 10 ml-Hydrierkolben mit 2 ml Methanol und 30 mg Palladium auf Aktivkohle (10%) versetzt und während 25 Minuten hydriert.

Nachdem die Hydriergraphik das Ende der Hydrogenolyse zeigte, wurde über Hyflo Super Cel vom Katalysator abfiltriert, dieser zweimal mit jeweils 10 ml Methanol nachgewaschen und die Reaktionslösung im Wasserstrahlvakuum bis fast zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 2 ml Wasser aufgenommen und ergab nach der Lyophilisierung im

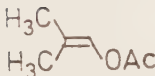
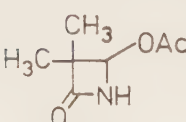
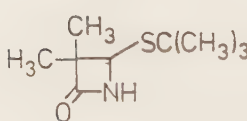
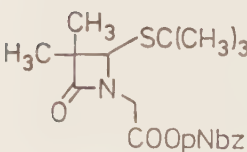
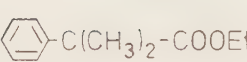
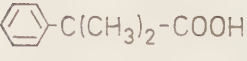
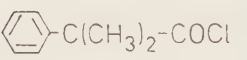
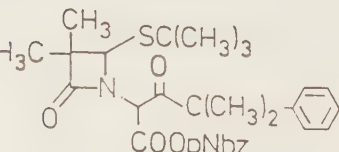
Hochvakuum 17 mg (48%) farblosen flockigen Schaum.

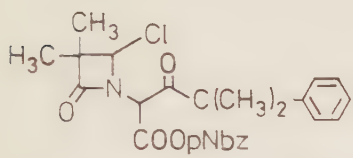
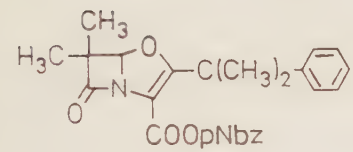
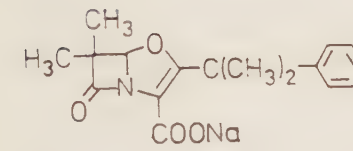
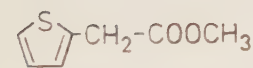
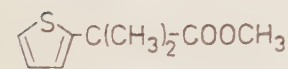
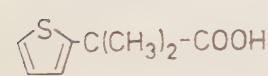
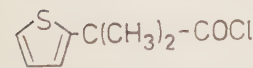
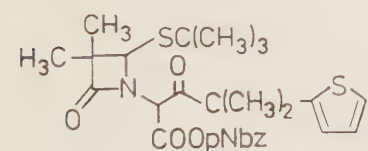
$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) : $\delta = 3,15$ (s, 1 H, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$), 3,43 (m, 1 H, 3-H), 3,68 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4,95 (d, $^3\text{J} = 3$ Hz, 1 H, 4-H), 5,05 - 5,30 (s, 1 H, -OH).

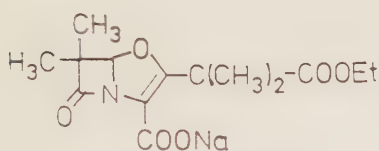
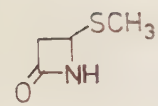
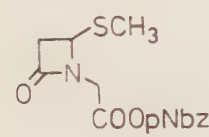
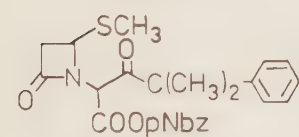
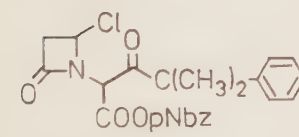
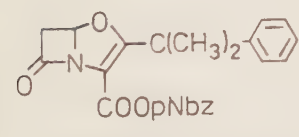
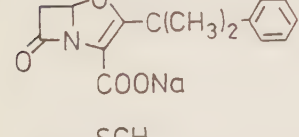
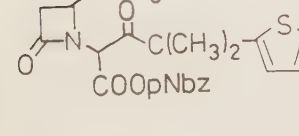
IR in KBr (cm^{-1}) : 3600 - 3200 s (OH), 3020 w, 2940 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - C=O), 1287 s und 1257 s (SO_2 und SO_3), 1140 s (SO_2), 1049 s (SO_3), 996 w, 740 w, 643 s, 598 w, 569 w, 527 w (SO_2), 497 w.

Massenspektrum (20 eV, 120°C) : $m/e = 224$ ($\text{C}_2\text{H}_3\text{KNS}_2\text{O}_5^+$), 203 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{KNO}_4\text{S}^+$), 169, 147, 143, 137, 135, 121 (KH_2SO_3^+), 120 (KHSO_3^+), 107 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NSO}_2^+$), 106 ($\text{C}_2\text{H}_4\text{NSO}_2^+$), 105 ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NSO}_2^+$), 100, 80 (SO_3^+), 79 (CH_3SO_2^+), 73 ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^+$), 72 ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2^+$), 71 ($\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_2^+$), 58, 44, 42 (CNO^+), 30 (CH_2O^+).

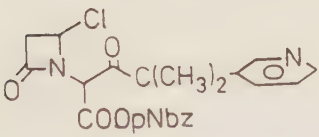
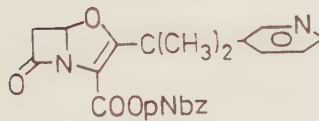
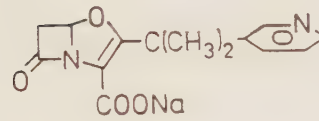
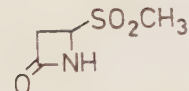
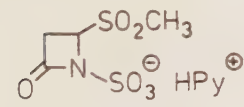
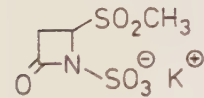
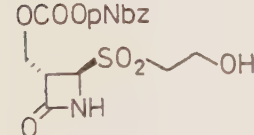
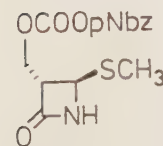
12. Strukturverzeichnis der dargestellten Verbindungen und
ihre Zuordnung im experimentellen Teil

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>36</u>	8.3., S. 80
	<u>38</u>	9.1., S. 82
	<u>39</u>	9.2., S. 84
	<u>40</u>	9.3., S. 85
	<u>32 b</u>	9.4., S. 87
	<u>33 b</u>	9.5., S. 89
	<u>34 b</u>	9.6., S. 90
	<u>41 b</u>	9.7., S. 91

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>42 b</u>	9.8., S. 93
	<u>43 b</u>	9.9., S. 94
	<u>44 b</u>	9.10., S. 95
	<u>31 a</u>	9.11., S. 97
	<u>32 a</u>	9.12., S. 98
	<u>33 a</u>	9.13., S. 99
	<u>34 a</u>	9.14., S. 100
	<u>41 a</u>	9.15., S. 102

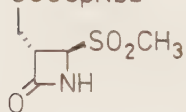
Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>51</u>	9.24., S. 114
	<u>52</u>	10.1., S. 116
	<u>53</u>	10.2., S. 117
	<u>54 b</u>	10.3., S. 119
	<u>55 b</u>	10.4., S. 121
	<u>56 b</u>	10.5., S. 122
	<u>57 b</u>	10.6., S. 124
	<u>54 a</u>	10.7., S. 125

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>55 a</u>	10.8., S. 126
	<u>56 a</u>	10.9., S. 128
	<u>57 a</u>	10.10., S. 129
	<u>59</u>	10.11., S. 130
	<u>60</u>	10.12., S. 132
	<u>61</u>	10.13., S. 133
	<u>62</u>	10.14., S. 134
	<u>63</u>	10.15., S. 136
	<u>64</u>	10.16., S. 137

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>65</u>	10.17., S. 139
	<u>66</u>	10.18., S. 140
	<u>67</u>	10.19., S. 141
	<u>73</u>	11.1., S. 143
	<u>74</u>	11.2., S. 145
	<u>75</u>	11.3., S. 146
	<u>77</u>	11.4., S. 147
	<u>78</u>	11.5., S. 149

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
----------------	------------	-----------------

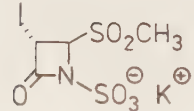
OCOO⁻pNbz



79

11.6., S. 150

OH



80

11.7., S. 152

13. Zusammenfassung

- a) Es wurden neue, antibakteriell wirksame Natriumsalze verschiedener 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuren über 10 -12 Stufen dargestellt mit folgenden Substituenten an der 3-Position des Molekülskeletts:
 $R = C(CH_3)_2 \text{ Phenyl}, C(CH_3)_2 (2\text{-Thienyl}), C(CH_3)_2 COOEt.$
- b) Die Synthese erfolgte nach einem weitgehend literaturbekannten Schema, das mit Erfolg auf das hochgespannte, bicyclische Oxapenemringsystem angewandt werden konnte. Die Vorstufen der Cyclisierung lagen ausschließlich in Form des Ketons vor. Die tautomere Enolform konnte in keinem Fall beobachtet werden. Diese Erscheinung war erstmals 1987 am Arbeitskreis Pfaendler⁶⁵ beschrieben worden. Mit der vorliegenden Arbeit wurde das Auftreten der Ketoform erstmals auch bei Vertretern mit funktionalisierten Resten in 3-Position nachgewiesen.
- c) Es wurden sowohl die antibakteriellen Eigenschaften, als auch die Hydrolysegeschwindigkeiten unter physiologischen Bedingungen (37°C, Phosphatpuffer pH 7,4) bestimmt. Die dargestellten Endstufen waren um so stabiler, je elektronenreicher die Substituenten in 3-Position des Bicyclus waren. Der aufgezeigte Einfluß

der Substituenten kann durch induktiv elektronische Effekte erklärt werden, sterische Einflüsse können aber nicht vollständig ausgeschlossen werden, was v.a. durch die Stabilitätsreihenfolge der 6,6-unsubstituierten Analoga angedeutet wurde. Ein tabellarischer Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten aller dargestellten bicyclischen Salze mit den zugehörigen IR-Carbonylfrequenzen ihres β -Lactamteils demonstriert eindrucksvoll die sinkende Stabilität dieser Substanzen mit steigender "Pyramidalisierung" des β -Lactamrings

- d) Die 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze zeigten nur mäßige antibakterielle Aktivitäten. Es handelte sich aber um die ersten wirksamen 6,6-dimethylsubstituierten Vertreter dieser Verbindungsklasse mit polaren und/oder funktionalisierten Resten in 3-Position. Die vergleichsweise geringe biologische Wirksamkeit war eindeutig auf die beiden Methylgruppen in der 6-Position des Molekülgerüsts zurückzuführen, wie ein Paralleltest mit den 6,6-unsubstituierten Analoga bewies.
- e) Zusätzlich zu den genannten Strukturen gelang die Darstellung der 6,6-unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze mit folgenden Resten in 3-Position : $R = C(CH_3)_2 \text{ Phenyl}, C(CH_3)_2 (2\text{-Thienyl}), C(CH_3)_2 (3\text{-Pyridyl}).$

Diese Verbindungen besitzen die bisher stärkste biologische Aktivität unter allen vergleichbaren Vertretern dieser relativ neuen Verbindungsklasse.

f) Im Verlaufe der Untersuchungen dieser Verbindungen zeigte sich eine Abnahme ihrer Halbwertszeiten, verursacht durch den Verlust der beiden stabilisierenden Methylgruppen in der 6-Position des Bicyclus. Damit wurde erneut die enge Verwandtschaft zu den strukturell ähnlichen Penemen bzw. Carbapenemen aufgezeigt. Der empfindliche Einfluß, den die Natur des Substituenten in der 3-Position auf die Molekülstabilität ausübt, wurde auch im Fall der 6,6-unsubstituierten Vertreter nachgewiesen.

g) Die 6,6-unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze zeigten sowohl gegen grampositive Keime, als auch gegen den gramnegativen *Escherichia coli* dem Penicillin V und der Penem-2-carbonsäure mindestens gleichwertige, im Falle der heterocyclensubstituierten Salze jedoch weit überlegene antibakterielle Aktivitäten. Die biologische Wirksamkeit erstreckte sich auch auf penicillinresistente Staphylokokken.

- h) In der vorliegenden Arbeit wurden Oxapeneme beschrieben, deren Stabilität antibakterielle Untersuchungen an intakten Bakterien erlauben und die zu den wirksamsten bekannten Bakteriziden zählen. Die vorgestellten Verbindungen sind die ersten antibakteriell wirksamen Oxapeneme mit polaren und/oder funktionalisierten Substituenten in 3-Position.
- i) Im Zusammenhang mit β -lactamaseinhibierenden Eigenschaften von β -Lactam-Antibiotika wurden desweiteren monocyclische, 4-methylsulfonylsubstituierte Azetidin-2-on-N-sulfonsäuren mit den Resten $R = H$ bzw. CH_2OH in 3-Position synthetisiert.
- j) Die Darstellung der monocyclischen N-Sulfonsäuren wurde im wesentlichen literaturbekannten Syntheseverfahren entnommen, wobei die Sulfonsäuregruppe durch eine Umsetzung mit N-Pyridinsulfonsäure bzw. DMF-N-Sulfonsäure auf den viergliedrigen Heterocyclus übertragen wurde.
- k) Im Verlaufe der biologischen Tests des 3-unsubstituierten Pyridinium- bzw. Kaliumsalzes der 4-Methylsulfonylazetidin-2-on-N-sulfonsäure konnten an penicillinresistenten Staphylokokken aber weder eigenständige antibakterielle Aktivitäten, noch β -lactamaseinhibierende Eigenschaften nachgewiesen werden.

- l) Das 3-hydroxymethylsubstituierte Analogon zeigte in den Bakterien-Agar-Diffusionstests gegen nichtresistente Staphylokokken bereits eine schwache antibiotische Wirkung; es war jedoch erneut keine β -Lactamaseinhibierung festzustellen. Biologische Tests mit resistenten Staphylokokken verliefen wiederum negativ. In eine Untersuchung der antibiotischen Wirkung an β -lactamaseproduzierenden, gramnegativen *Escherichia coli* zeigte das Kaliumsalz der 3-substituierten Azetidin-2-on-N-sulfonsäure eine geringe antibakterielle Aktivität, die jedoch derjenigen des Penicillin G überlegen war.
- m) Die in der Arbeit erstmals dargestellten Azetidin-2-on-N-sulfonsäuresalze zeigen eine geringe Verstärkung der biologischen Wirksamkeit nach der Einführung eines polaren Substituenten ($R = CH_2OH$) in die 3-Position des β -Lactamrings; ihre Aktivitäten beschränken sich jedoch im wesentlichen auf gramnegative Keime.

14. Literaturverzeichnis

1. R. Stahlmann, Pharmazie in unserer Zeit 8, 19 (1979)
2. E.P. Abraham, Spektrum der Wissenschaft 8, 46 (1981)
3. Y. Aharonowitz, G. Cohen, Spektrum der Wissenschaft 11, 103 (1981)
4. W. Dürckheimer, J. Blumbach, R. Latrell, K.H. Scheunemann, Angew. Chem. 97, 183 (1985)
5. N. Boss, Roche-Lexikon der Medizin, Hoffmann-La Roche A.G. u. Urban & Schwarzenberg, Ed., S. 692 f (1987²)
6. G.G.F. Newton, E.P. Abraham, Biochem. J. 58, 103 (1954)
7. G.G.F. Newton, E.P. Abraham, Biochem. J. 62, 651 (1956)
8. G.G.F. Newton, E.P. Abraham, Biochem. J. 79, 377 (1961)
9. B. Loder, G.G.F. Newton, E.P. Abraham, Biochem. J. 79, 408 (1961)
10. R.B. Morin, B.G. Jackson, E.H. Flynn, R.W. Roeske, J. Amer. Chem. Soc. 84, 3400 (1962)
11. R.B. Woodward, K. Heusler, J. Gosteli, P. Naegeli et al., J. Amer. Chem. Soc. 88, 852 (1966)
12. J.C. Sheehan, K.R. Henery-Logan, J. Amer. Chem. Soc. 79, 1262 (1957)
13. G.N. Rolinson, F.R. Batchelor, D. Butterworth, J. Cameron-Wood, M. Cole, G.C. Eustace, M.V. Hart, M. Richards, E.B. Chain, Nature 187, 236 (1960);
G.N. Rolinson, Chemotherapia 2, 52 (1961)
14. E.O. Stapley, J.M. Mata, I.M. Miller, T.C. Demmny, H.B. Woodruff, Antimicrob. Agents Chemother., 20 (1963);

- L. Chalet, T.W. Miller, F. Tausig, F.J. Wolf, Antimicrob. Agents Chemother., 28 (1963)
15. R. Nagarajan, L.D. Boeck, M. Gorman et al., J. Amer. Chem. Soc. 93, 2308 (1971)
16. L.D. Cama, B.G. Christensen, J. Amer. Chem. Soc. 96, 7582 (1974)
17. R.B. Woodward in "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam-Antibiotics", Special Publication No. 28, J. Elks, Ed., Royal Society of Chemistry, London, S. 167 ff (1977)
18. H. Aoki, H. Sakai et al, J. Antibiot. 29, 492 und 890 (1976)
19. J.S. Kahan, F.M. Kahan, R. Goegelman et al., 16. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago 1976, Abstr. No. 227
20. A. Imada, K. Kitano, K. Kintaka et al., Nature 289 und 590 (1981);
R.B. Sykes, C.M. Cimarusti, D.P. Bonner et al., Nature 291 und 489 (1981)
21. B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J.D. Watson in "Molekularbiologie der Zelle", Übers. von L. Jaenicke, VCH, Weinheim - Deerfield Beach, Florida S. 12 ff (1986¹)
22. M.R.J. Salton, The Bacterial Cell Wall, Elsevier, Amsterdam (1964)
23. H.G. Schlegel, Allgemeine Mikrobiologie, Thieme Verlag, Stuttgart (1985)

24. I. Ofek, E.H. Beachey, Ann. Rev. Int. Med 25, 503
(1980)
25. W. Forth, D. Hentschler, W. Rummel, Allgemeine und
spezielle Pharmakologie und Toxikologie, BI Wissen-
schaftsverlag, Mannheim, S. 524 ff (1983⁴)
26. E. Mutschler, Arzneimittelwirkungen, Wissenschaftliche
Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, S. 545 ff (1981⁴)
27. R.B. Sykes, N.H. Georgopapadakou in " β -Lactam-Antibio-
tics", G.D. Shockman, Ed., Academic Press, New York,
S. 199 ff (1981)
28. R. Scherrer, P. Gerhardt, J. Bacteriol. 107, 718 (1971)
29. H. Nikaido, T. Nakae, Adv. Microb. Physiol. 20, 163
(1979)
30. H. Nikaido in "Bacterial Outer Membranes: Biogenesis
and Function", M. Inouye, Ed., Wiley-Interscience,
New York, S. 361 ff (1979)
31. G. Decad, H. Nikaido, J. Bacteriol. 128, 325 (1976)
32. R.E.W. Hancock, H. Nikaido, J. Bacteriol. 136, 381
(1978)
33. R.B. Sykes, M. Matthew, J. Antimicrob. Chemother., 115
(1976)
34. E.L. Winnacker, Gene und Klone, VCH, Weinheim,
S. 183 ff (1985¹)
35. P.M. Blumberg, J.L. Strominger, Bacteriol. Rev. 38, 291
(1974)
36. N.H. Georgopapadakou, F.Y. Liu, Antimicrob. Agents
Chemother., 148 (1980)

37. T.T. Howarth, A.G. Brown, T.J. King, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 266 (1976)
38. A.R. English, J.A. Retsema et al., Antimicrob. Agents Chemother., 414 (1978)
39. P.C. Cherry, C.E. Newall in "Chemistry and Biology of β -Lactam-Antibiotics", Vol. 2, R.B. Morin, M. Gorman, Ed., Academic Press, New York-London, S. 361 (1982)
40. M. Cole, Drugs of the Future, Vol. 6, No. 11, 697 (1981)
41. M. Cole, Phil. Trans. Roy. Soc. London B289, 207 (1980)
42. P.H. Bentley, P.D. Berry, G. Brooks, M.L. Gilpin, E. Hunt, I.I. Zomaya in "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam-Antibiotics", 2. Intern. Symp., Cambridge 1980, G.I. Gregory, Ed., Royal Society of Chemistry, London, 175 (1981)
43. P.H. Bentley, P.D. Berry, G. Brooks, M.L. Gilpin, E. Hunt, I.I. Zomaya, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 748 (1977)
44. A.J. Eglinton, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 720 (1977)
45. P. Lombardi, G. Franceschi, F. Arcamone, Tetrahedron Lett.(39), 3777 (1979)
46. P.C. Cherry, D.N. Evans, C.E. Newall, N.S. Watson, Tetrahedron Lett. 21, 561 (1980)
47. R.B. Woodward in "The Chemistry of Penicillins", H.T. Clarke, J.R. Johnson, R. Robinson, Ed., Princeton University Press, Princeton, S. 440 (1949)

48. R.M. Sweet, L.F. Dahl, J. Amer. Chem. Soc. 92, 5489 (1970)
49. R.M. Sweet in "Cephalosporins and Penicillins", E.H. Flynn, Ed., Academic Press, New York-London, S. 280 ff (1972)
50. D.J. Waxman, J.L. Strominger in "Chemistry and Biology of β -Lactam-Antibiotics", Vol. 3, R.B. Morin, M. Gorman, Ed., Academic Press, New York-London, S. 209 ff (1982)
51. M.J. Finn, M.A. Harris, E. Hunt, I.I. Zomaya, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1345 (1984)
52. D.F. Corbett, T.T. Howarth, I. Sterling, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 808 (1977)
53. P.H. Bentley, G. Brooks, M.L. Gilpin, E. Hunt, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 905 (1977)
54. E. Hunt, P.H. Bentley, G. Brooks, M.L. Gilpin, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 906 (1977)
55. P.H. Bentley, E. Hunt, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 518 (1978)
56. G. Brooks, E. Hunt, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 115 (1983)
57. P.H. Bentley, G. Brooks, M.L. Gilpin, E. Hunt, Tetrahedron Lett. 21, 1889 (1979)
58. I. Ernest, J. Gosteli, C.W. Greengrass, W. Holick, D.E. Jackman, H.R. Pfaendler, R.B. Woodward, J. Amer. Chem. Soc. 100, 8214 (1978)

59. H.R. Pfaendler, J. Gosteli, R.B. Woodward, J. Amer. Chem. Soc. 102, 2039 (1980)
60. R.B. Woodward, Phil. Trans. Roy. Soc. London 289, 239 (1980)
61. Unveröffentlichte Ergebnisse des Woodward Forschungsinstituts
62. L.D. Cama, K.J. Wildonger, R. Guthikonda, R.W. Ratcliffe, B.G. Christensen, Tetrahedron 39, No. 15, 2531 (1983)
63. W. Koller, A. Linkies, H. Pietsch, H. Rehling, D. Reuschling, Tetrahedron Lett. 23, No. 15, 1545 (1982)
64. R. Bartsch, Diplomarbeit über die "Synthese von 6-Hydroxyalkyloxapenemcarbonsäuresalzen", München, 1987
65. W. Hendel, Dissertation über "Stabile Oxapeneme", München, 1987
66. M.W. Foxton, R.C. Mearman, C.E. Newall, P. Ward, Tetrahedron Lett. 22, No. 26, 2497 (1981)
67. D.T.W. Chu, J.E. Hengeveld, D. Lester, Tetrahedron Lett. 24, No. 2, 139 (1983)
68. M. Ihara, A. Nakayama, K. Fukumoto, Tetrahedron 38, No. 16, 2489 (1982)
69. a) J. Cuffe, A.E.A. Porter, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 1257 (1980)
69. b) G. Brooks, T.T. Howarth, E. Hunt, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 642 (1981)
70. H. Kuntzel, H. Wolf, K. Schaffner, Helv. Chim. Acta 54, 868 (1971); A.L. Ternay, D. Daevenport, G. Bledsoe, J.

- Org. Chem. 39, No. 22, 3268 (1974)
71. P.Z. Bedoukian, J. Amer. Chem. Soc. 66, 1326 (1944)
72. H.J. Hagemeyer, D.C. Hull, Ind. Eng. Chem. 41, 2920 (1949)
73. K. Clauss, D. Grimm, G. Prossel, Liebigs Ann. Chem., 539 (1974)
74. R. Graf, Angew. Chem., 179 (1968)
75. L.A. Shchukina, A.L. Zhuze, J. Gen. Chem. USSR 37, 1880 (1967)
76. $\text{BrCH}_2\text{COOpNbz}$, NaJ in Aceton, 0°C, 1 Stunde
77. H.R. Pfaendler, Priv. Mitteilung
78. M.W. Rathke, J. Deitch, Tetrahedron Lett. No. 31, 2953 (1971)
79. H. Günzler, H. Böck, IR-Spektroskopie, VCH, Weinheim (1983²)
80. M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, Thieme Verlag Stuttgart (1979)
81. Fr. Fichter, J. Heer, Helv. Chim. Acta 18, 1276 (1935)
82. S.J. Cartwright, A.F.W. Coulson, Nature 278, 360 (1979)
83. J.R. Knowles, Phil. Trans. Roy. Soc. London B 289, 309 (1980)
84. S. Mickel, Aldrichim. Acta 18, No. 4, 95 (1985)
85. T. Kobayashi, Y. Iwano, K. Hirai, Chem. Pharm. Bull. 26, 1761 (1978)
86. T. Kikuchi, S. Uyeo, Chem. Pharm. Bull. 15, 549 (1967)
87. W.W. Stuart, Nature 229, 174 (1971)

88. P.A. Taylor, H.K. Schnoes, R.D. Durbin, Biochim. Biophys. Acta 286, 107 (1972)
89. H. Aoki, K. Kunugita, J. Hosoda, H. Imanaka, Jpn. J. Antibiot. 30 (Suppl.), 207 (1977);
K. Kitano, K. Kintaki, S. Suzuki, K. Katamoto, K. Nara, Y. Nakao, Hakko Kogaku Zasshi 53, 327 (1975)
90. M. Hashimoto, T. Komori, T. Kamiya, J. Amer. Chem. Soc. 98, 3023 (1976)
91. K. Kamiya, M. Takamoto, Y. Wada, M. Asai, Acta Cryst. B 37, 1626 (1981)
92. W.L. Parker, M.L. Rathnum, J. Antibiot. 35, 300 (1982)
93. D.M. Floyd, A.W. Fritz, C.M. Cimarusti, J. Org. Chem. 47, 176 (1982)
94. M. Sendai, H. Shohei, T. Mitsumi, K. Shoji, M. Taisuke, K. Masahiro, O. Michihiko, J. Antibiot. 38, 346 (1985)
95. A. Furlenmeier, W. Hofheinz, Ch.N. Hubschwerlen, H.P. Isenring, Hoffmann-La Roche A.G., Eur. Pat. Appl. EP. 96296 A2, 21. Dez. 1983, (CA 100(23):191650c)
96. A. Furlenmeier, W. Hofheinz, Ch. N. Hubschwerlen, H.P. Isenring, Hoffmann-La Roche A.G., Eur. Pat. Appl. EP. 96297 A2, 21. Dez. 1983, (CA 100(21):174525y)
97. C.M. Cimarusti, R.B. Sykes, Medicinal Research Reviews 4, No. 1, 1 (1984)
98. T. Matsuo, M. Kuno, K. Okonogi, Takeda Chemical Industries Ltd., PCT. Int. Appl. WO 82/1820 A1, 10. Juni 1982, (CA 97(19):162701j)
99. K. Shoji, M. Sendai, M. Tomimoto, O. Michihiko, T.

- Matsuo, Takeda Chemical Industries Ltd., Eur. Pat. Appl. EP. 53816 A1, 16. Juni 1982, (CA 98(17):143181u)
100. W.A. Slusarchyk, T. Dejneka, E.M. Gordon, E.R. Weaver, W.M. Koster, Heterocycles 21, 191 (1984)
101. C.M. Cimarusti, D.P. Bonner, H. Breuer, H.W. Chang, A.W. Fritz, D.M. Floyd, T.P. Kissick, W.H. Koster, D. Kronenthal, F. Massa, R.H. Mueller, J. Pluscec, W.A. Slusarchyk, R.B. Sykes, M. Taylor, E.R. Weaver, Tetrahedron 39, 2577 (1983)
102. J.S. Skotnicki, T.J. Commons, R.W. Rees, J.L. Speth, J. Antibiot. 36, 1201 (1983)
103. G. Teutsch, A. Bonnet, Tetrahedron Lett. 25, 1561 (1984)
104. K. Yoshioka, T. Miyawaki, S. Kishimoto, T. Matsuo, M. Ochiai, J. Org. Chem. 49, 1427 (1984)
105. W.W. Epstein, L.A. Gaudioso, J. Org. Chem. 47, 176 (1982)
106. T. Matsuo, T. Sugawara, H. Masuya, Y. Kawano, Takeda Chemical Industries Ltd., Eur. Pat. Appl. EP 21678, 7. Jan. 1981, (CA 95(11):97566m)
107. Takeda Chemical Industries Ltd., Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 58/18381 A2 [83/18381], 2. Feb. 1983, (CA 99(7): 53579w)
108. Banyu Pharmaceutical Co. Ltd, Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 59/20281 A2 [84/20281], 1. Feb. 1984, (CA 101(3): 23227x)
109. Beecham Group PLC, Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 58/128370

- A2 [83/128370], 30. Juli 1983, (CA 100(3):22507f)
110. T. Hirose, J. Nakano, H. Uno, Yakugaku Zasshi 103(11),
1210 (1983)
111. K. Hofmann, G. Simchen, Synthesis, 699 (1979)
112. J.L. Luche, H.B. Kagan, R. Parthasarathy, G. Tsoucaris,
C. deRango, C. Zelwer, Tetrahedron 24, 1275 (1968);
H.B. Kagan, J.J. Basselier, J.L. Luche, Tetrahedron
Lett. 16, 941 (1964)
113. P. Bevilacqua, J.L. Roberts, Synthetic Comm. 13(10),
797 (1983)
114. P.C. Cherry, C.E. Newall in "Chemistry and Biology of
 β -Lactam Antibiotics", Vol. 2, R.B. Morin, M. Gorman,
Ed., Academic Press, New York-London, S. 381 (1982)
115. R.A. Friedel, M. Orchin, Ultraviolet Spectra of Aromatic
Compounds, John Wiley & Sons Inc., New York, Chapman
& Hall Ltd., London, Spektrennr. 103 (1951)
116. D. Barnard, J.M. Fabia, H.P. Koch, J. Chem. Soc. 4,
2442 (1949)

Lebenslauf

8.2. 1959	Geboren in Landshut
1965 - 1971	Besuch der Volksschulen St. Martin und St. Nikola in Landshut
1971 - 1975	Staatliche Realschule für Kna- ben in Landshut
Juni 1975	Mittlere Reife
1975 - 1979	Mathematisch-naturwissen- schaftlicher Zweig des Hans- Leinberger-Gymnasiums in Landshut
Juni 1979	Abitur
November 1979	Immatrikulation an der Univer- sität Regensburg im Studien- gang Chemie-Diplom
Oktober 1981	Diplomchemiker-Vorprüfung
November 1983	Mündliche Diplomprüfung

Januar - November 1984

Anfertigung der Diplomarbeit
unter Anleitung von Prof. Dr.
E.O. Steinborn am Institut für
Chemie und Pharmazie der Uni-
versität Regensburg

Dezember 1984 - Mai 1988

Anfertigung einer Dissertation
unter Anleitung von Prof. Dr.
H.R. Pfaendler am Institut für
Organische Chemie der Univer-
sität München

Seit Dezember 1984

Anstellung als vollbeschäftig-
te wissenschaftliche Hilfskraft

